

⑫ 特 許 公 報 (B 2) 平3-7401

⑤ Int. Cl.⁵

B 01 D 15/08
G 01 N 30/48

識別記号

庁内整理番号

6953-4D
7621-2G

⑭公告 平成3年(1991)2月1日

発明の数 3 (全36頁)

⑭ 発明の名称 分子分離カラムおよびその使用

審 判 平1-18668

⑮特 願 昭56-502832

⑯国際出願 PCT/US81/01077

⑰出 願 昭56(1981)8月12日

⑱国際公開番号 WO82/00774

⑲国際公開日 昭57(1982)3月18日

⑳公表番号 昭57-501466

㉑公 表 日 昭57(1982)8月19日

優先権主張

㉒1980年9月8日㉓米国(US)㉔184822

㉕1981年7月28日㉖米国(US)㉗287609

㉚発 明 者 クラウダー・アルヴィン・エル, ザ・サード 米国06416コネチカット・クロムウエル・グレンヴィュー・ドライヴ16
㉛発 明 者 デイリー・ニルス・エル 米国06492コネチカット・ウォーリングフォード・オークデール・サークル25
㉜発 明 者 フィオー・ジョセフ・ヴィ 米国06430コネチカット・フェアフィールド・スタイナー・ストリート205
㉝発 明 者 ホウ・ケニス・シー 米国78239テキサス・サン・アントニオ・マラード・ポイント6314
㉞発 明 者 マリナツシオ・ポール・ジェー 米国06468コネチカット・モンロー・フォレスト・ロード107
㉟発 明 者 オストリーチャー・ユージン・エー 米国06032コネチカット・ファーマントン・リザーヴェイション・ロード(番地なし)
㊱出 願 人 キュノ、インコーポレーテッド アメリカ合衆国コネチカット州、メリデン、リサーチ、パークウェイ、400
㊲代 理 人 弁理士 佐藤 一雄 外2名
審判の合議体 審判長 吉村 宗治 審判官 福沢 俊明 審判官 嶋 矢 督
㊳参考文献 特開 昭49-130795(JP, A) 特公 昭43-1034(JP, B1)

1

2

㊴請求の範囲

1 カラムを流れる試料の成分の二相間の分布差を達成するためのクロマトグラフィカラムであつて、このカラムは、各成分に関して実質的に均質であり、そしてその中に固定化された微粒子を有する多孔性の繊維マトリックスよりなる親水性の膨潤性固形固定相を含み、該繊維または微粒子の少なくとも一員がクロマトグラフィ機能を有し、クロマトグラフィ分離に効果的であつて、該固形固定相がカラムの内壁と協同してそれとの水膨潤

密着により実質的に液密性のシールを形成し、該固形固定相の周囲の流体のかなりの斜行または側路を防止することを特徴とする、クロマトグラフィカラム。

2 該固定相が固形固定相要素の複数のシートを含み、該要素の端部がカラムの内壁と協同する、請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィカラム。

3 該微粒子がクロマトグラフィ分離に効果的である、請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィ

イカラム。

4 該繊維がセルロースである、請求の範囲第3項に記載のクロマトグラフィカラム。

5 該マトリックスが多量の長い自己結合性構造繊維およびカナダ規格汚水度が+100~-600mlの範囲にある少量の精製バルブを含む、請求の範囲第4項に記載のクロマトグラフィカラム。

6 構造繊維対精製バルブ繊維の比が2:1~10:1である、請求の範囲第5項に記載のクロマトグラフィカラム。

7 該比が3:1~5:1である、請求の範囲第6項に記載のクロマトグラフィカラム。

8 微粒子の量が該固形固定相の少くも10重量%である、請求の範囲第1、2、3、4、5、6または7項に記載のクロマトグラフィカラム。

9 微粒子の量が該固形固定相の10~80重量%である、請求の範囲第8項に記載のクロマトグラフィカラム。

10 該微粒子が約5~100ミクロンの平均粒径を有する、請求の範囲第1、2、3、4、5、6または7項に記載のクロマトグラフィカラム。

11 該構造繊維が+400~+800mlのカナダ規格汚水度を有するセルロースである、請求の範囲第5項に記載のクロマトグラフィカラム。

12 該カラムが円筒状でありそして該シートが円板状物である、請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィカラム。

13 固形固定相要素の複数のシートにて充填された中空のシリンダーを含み、該要素の端部が該シリンダーの内壁と協同して実質的に液密性シールを形成し、該要素の端部周囲の流体のかなりの斜行または側路を防止する、請求の範囲第1、2、3、4または5項に記載のクロマトグラフィカラム。

14 該要素がシリンダーの内壁と水膨潤密着により液密性シールを形成することができる、請求の範囲第13項に記載のクロマトグラフィカラム。

15 該要素が複数の円板状要素を含み、該微粒子は約5~100ミクロンの平均粒径を有しそして固形固定相の約10~80重量%であり、該構造繊維は+400~+800mlのカナダ規格汚水度を有するセルロースであり、そして該構造繊維と精製バルブ繊維との比が3:1~5:1である、請求の範囲

第14項に記載のクロマトグラフィカラム。

16 該要素がシリンダーの内壁と圧縮摩擦密着により液密性シールを形成する、請求の範囲第13項に記載のクロマトグラフィカラム。

17 親水性の膨潤性固形固定相を含有するクロマトグラフィカラムに移動相を通過させて試料の成分を二相間で分布差を達成することによるクロマトグラフィ分離を実施する方法において、固定化された微粒子を中に有する多孔性の繊維マトリックスを固定相として使用し、ここにおいて該繊維または微粒子の少くとも一員はクロマトグラフィ機能を有し、クロマトグラフィ分離に効果的であつて、該固形固定相はその各成分に関して実質的に均質であり、且つ該固形固定相はカラムの内壁と協同してそれとの水膨潤密着により実質的に液密性のシールを形成し、該固形固定相の周囲の流体のかなりの斜行または側路を防止することを特徴とする、クロマトグラフィ分離を実施する方法。

18 該固定相が固形固定相要素の複数のシートを含み、該要素の端部がカラムの内壁と協同する、請求の範囲第17項に記載の方法。

19 該微粒子がクロマトグラフィ分離に効果的である、請求の範囲第17項に記載の方法。

20 21 該移動相が液体である、請求の範囲第17項に記載の方法。

22 該繊維がセルロースである、請求の範囲第19項に記載の方法。

23 該マトリックスが多量の長い自己結合性構造繊維およびカナダ規格汚水度が+100~-600mlの範囲にある少量の精製バルブを含む、請求の範囲第21項に記載の方法。

24 構造繊維対精製バルブ繊維の比が2:1~10:1である、請求の範囲第22項に記載の方法。

25 該比が3:1~5:1である、請求の範囲第23項に記載の方法。

26 微粒子の量が該固形固定相の少くも10重量%である、請求の範囲第17、18、19、20、21または22項に記載の方法。

27 微粒子の量が該固形固定相の10~80重量%である、請求の範囲第25項に記載の方法。

28 該微粒子が約5~100ミクロンの平均粒径を有する、請求の範囲第17、18、19、2

0、21または22項に記載の方法。

28 該構造繊維が+400～+800mlのカナダ規格
 汙水度を有するセルロースである、請求の範囲第
 22項に記載の方法。

29 該カラムが円筒状でありそして該シートが
 円板状物である、請求の範囲第18項に記載の方
 法。

30 固形固定相の複数のシートにて充填された
 中空のシリンダーを含み、該要素の端部が該シリ
 ンダーの内壁と協同して実質的に液密性シールを
 形成し、該要素の端部周囲の流体のかかなりの斜行
 または側路を防止する、請求の範囲第17、1
 8、19、20、21または22項に記載の方
 法。

31 該要素がシリンダーの内壁と水膨潤密着に
 より液密性シールを形成することができる、請求
 の範囲第30項に記載の方法。

32 該要素が複数の円板状要素を含み、該微粒子
 は約5～100ミクロンの平均粒径を有しそして
 固形固定相の約10～80重量%であり、該構造繊維
 は+400～+800mlのカナダ規格汙水度を有するセル
 ロースであり、そして該構造繊維と精製バルブ
 繊維との比が3:1～5:1である、請求の範囲
 第31項に記載の方法。

33 カラムを流れる試料の成分の二相間の分布
 差を達成するための固形固定相であつて、この固
 形固定相は親水膨潤性であり、また各成分に関し
 て実質的に均質であり、その中に固定化された微
 粒子を有する多孔性の繊維マトリックスよりなる
 もので、該繊維または微粒子の少くとも一員がクロ
 マトグラフィ機能を有し、クロマトグラフィ分離
 に効果的であつて、該固形固定相がカラムの内
 壁と協同してそれとの水膨潤密着により実質的に
 液密性のシールを形成し、該固形固定相の周囲の
 流体のかかなりの斜行または側路を防止することを
 特徴とする、固形固定相。

34 該固定相が固形固定相要素の複数のシート
 を含み、該要素の端部がカラムの内壁と協同す
 る、請求の範囲第33項に記載の固形固定相。

35 該微粒子がクロマトグラフィ分離に効果的
 である、請求の範囲第33項に記載の固定相。

36 該繊維がセルロースである、請求の範囲第
 35項に記載の固定相。

37 該マトリックスが多量の長い自己結合性構

造繊維およびカナダ規格汙水度が+100～-600ml
 の範囲にある少量の精製バルブを含む、請求の範
 囲第36項記載の固定相。

38 構造繊維対精製バルブ繊維の比が2:1～
 10:1である、請求の範囲第37項に記載の固定
 相。

39 該比が3:1～5:1である、請求の範囲
 第38項に記載の固定相。

40 微粒子の量が該固形固定相の少くも10重量
 %である、請求の範囲第33、34、35、36
 または37項に記載の固定相。

41 微粒子の量が該固形固定相の10～80重量%
 である、請求の範囲第40項に記載の固定相。

42 該微粒子が約5～100ミクロンの平均粒径
 を有する、請求の範囲第33、34、35、36
 または37項に記載の固定相。

43 該構造繊維が+400～+800mlのカナダ規格
 汙水度を有するセルロースである、請求の範囲第
 37項に記載の固定相。

44 該シートが円板状物である、請求の範囲第
 34項に記載の固定相。

45 固形固定相要素の複数のシートを含み、該
 要素の端部が分離カラムの内壁と協同して実質的
 に液密性シールを形成し、これによつて該要素の
 端部周囲の流体のかかなりの斜行または側路を防止
 する、請求の範囲第33、34、35、36また
 は37項に記載の固定相。

46 該要素がシリンダーの内壁と水膨潤密着に
 より液密性シールを形成することができる、請求
 の範囲第45項に記載の固定相。

47 該要素が複数の円板状要素を含み、該微粒子
 は約5～100ミクロンの平均粒径を有しそして
 該固形固定相の約10～80重量%であり、該構造繊維
 は+400～+800mlのカナダ規格汙水度を有する
 セルロースであり、そして該構造繊維と精製バル
 ブ繊維との比が3:1～5:1である、請求の範
 囲第46項に記載の固定相。

48 該要素が分離カラムの内壁と圧縮摩擦密着
 により液密性シールを形成することができる、請
 求の範囲第45項に記載の固定相。

関連出願

この出願は、1980年9月8日附の米国出願
 184822号の一部継続出願である。該出願の全開示
 を参照としてこの出願に包含させるものとする。

この出願はまた、下記の出願とも関連する。

1981年 6月24日附のHouによる米国出願号、

名称「プロセス フォア プリベアリング ア
ゼロ スタンダード セーラル (ゼロ標準血清の
製造方法)」および

1981年 2月27日附のcone他による米国出願
238686号

名称「ティッシュ カルチャー ミディアム
(組織培養培地)」

上記のこれらの出願および記載はすべて、この
出願に記載されてそして特許請求された発明に関
して従来技術ではない。

発明の背景

分析の目的もしくは生成物調製の目的のいづれ
かの所与の試料の成分を分子分離するには、数多
くの技術が存在する。分子分離の一つの形式には
試料の成分の二相間の分布差を達成する種々の方
法が含まれ、そしてこのような方法は一般にクロ
マトグラフィといわれる。該分布差は、液体また
は気体であり得る移動相と固定相との間の交換に
よって達成される。

1 発明の分野

本発明は、新規な分子分離カラムそして例えば
クロマトグラフィカラムに関し、そしてより特定
的にはこのようなカラム中に使用するための新規
な固定相に関する。

クロマトグラフィは、気体または液体であり得
る移動相と固定相との間の試料の交換にもとづく
広種類の分離技術に適用される一般的な用語であ
る。気体が移動相 (またはクロマトグラフィの用
語にて「モウビルフェーズ (移動相)」といわれ
る) である場合この技術はガスクロマトグラフィ
といわれ、そして液体が移動相である場合この技
術は液体クロマトグラフィといわれる。

分析のいわゆる「クロマトグラフィ吸収方法」
はロシアの植物学者M. Tswett (Ber. Dent. Botan.
Ges., 24, 316, 1906) によって創始され、彼は
これを植物顔料の成分の分離に使用した。1931年
までこの研究は僅かしか注目されず、そして1940
年は正統的なそして置換による分析が重視されて
いた。クロマトグラフィの論理は1940年に
Wilson, J. N. (J. Amer. Chem. Soc., 62, 1585)
によって創作された。該定量的理論は移動相と固

定相との間の拡散または非平衡を可能としなかつ
たのでこの研究の重要な歴史的役割は大巾に無視
されてきたが、Wilsonは非平衡の完全な定性的
な検討およびクロマトグラフィにおけるその重要
な立場を提供した。彼はまた長さ方向の拡散の役
割を説明した。低度の吸収および脱着の速速度か
ら生ずる大きな拡大効果は流速を減小することに
よって低減することができるが、これはまた大き
な長さ方向の拡散効果による拡大効果をもたら
す。

Wilsonの研究に続いて、A. J. D. Martinおよ
び R. L. M. Synge の ノーベル 賞 授 賞 論 文
(Biochem. J., 35, 1358, 1941) が発表された
が、これはクロマトグラフィのプレート論理を導
入しそして液体クロマトグラフィを改新した。彼
等も移動相として気体を使用することを示唆し
た。ガスクロマトグラフィは、1952年にA. T.
JamesおよびA. J. P. Martin, Biochem. J., 50,
6979によつてはじめて試行された。しかしその後
は、気-液体および気-固体のクロマトグラフィ
を扱う広大な文献が出版され、そしてガスクロ
マトグラフィは精巧な分析技術に発展していった。

はじめは、液体のクロマトグラフは直径の大き
いガラスのカラム中で常圧にて実施された。これ
らの条件では、長い分析時間および長い工程を必
要とした。しかし近年では、高圧ポンプの導入に
よつて、装置化およびカラムの充填の進歩が急速
に起り出版される文献の量に歩調を合せるのが困
難となった。そして液体クロマトグラフィは迅速
に進歩してガスクロマトグラフィと並び同程度の
地位となった。

分離は、目的に応じて分析用または調製用のい
づれかに分類できる。分析用の分離では、その目
的は試料混合物の種々の成分の高精度の分離およ
び同定および定量である。また調製用のクロマト
グラフィでは、その目的は試料中の望ましい成分
の純粋な量の分離である。液体クロマトグラフィ
は、分析用技術ならびに調製用技術の両者に優れ
たものであり得る点で、ガスクロマトグラフィよ
りも有利である。ガスクロマトグラフィは、試料
の規模が非常に少いので、調製用器具としての適
用において非常に限定される。これに対し液体ク
ロマトグラフィにおいては、ミリグラムからのグ
ラム単位の量の調製用分離がクロマトグラフィの

カラム径および固定相の量に応じて普通である。

クロマトグラフィの技術を総合すると数種に分類することができ、そして最も基本的なものは使用する相の種類の名前にもとづく。液体吸着クロマトグラフィは、有機および生化学の分析に広範囲に使用されるが、適当な吸着剤が僅かしかないので限定されている。吸着の分布係数は合計の濃度に依存することが多く、そしてこの挙動のため不完全な分離を生ずることが多い。気-固体クロマトグラフィは、液体吸着クロマトグラフィと一般に同じ欠点がある。イオン交換クロマトグラフィは、液-固体クロマトグラフィの特別の分野でありそしてイオン種に対して特に適用され得る。親和性クロマトグラフィは、試料の所与の成分に関して固定相に結合されたりガンド（配位子）の引力（親和力）にもとづくものである。液-液または分配クロマトグラフィは、固定相としての多孔性不活性固形物の表面に保持された薄層の使用に参与する。ペーパークロマトグラフィは固定液が紙マット上に吸着された水の膜である液-液クロマトグラフィの特別の分野であり、そして薄層クロマトグラフィは該紙がアルミナ、シリカゲルまたは他の粉状材料の薄層にて被覆されたガラスまたはプラスチックの板で入れ換えたことを除きペーパークロマトグラフィと同様である。

カラムの能率はHETP（理論的プレートに対する等価高さ）といわれることのあるHにて一般に計測され、該Hはカラム長中に含まれる理論的プレートの合計数（n）にて除したカラム長である。該Hは三つの寄与の合計、すなわち、非均等径路（渦拡散）からの寄与および該カラムにそつての拡散（長さ方向の拡散）からの寄与および非平衡（物質移動）からの寄与の合計であると一般に考えられている。該渦拡散は固定相を構成する粒子の正比例する。該構造の均質性が少ないほど、非均等経路からの寄与が大となる。従つて従来のクロマトグラフの論理によれば、充填の形状寸法を細かくすると、能率の増加を生ずる固形物表面への物質の移動の拡散境界層の低減すなわちより短い経路を生ずるであろうと予測される。現状のクロマトグラフ理論そして従つて現状の実施では、非常に微細な均質球状の充填が採用される。しかし複雑な因子によつて、流体の流れに対するカラムの抵抗すなわち該カラムを横切る圧力

低下が粒子の直径の自乗に逆比例する。従つて、該粒子の直径を半分にすると該圧力低下は4の次数で増大するであろう。

5 なお、業界に知られているように、ゲルの基材料は有意の圧力低下および／または低い流速に耐えることができない。

2 従来技術

10 繊維または紙によつて担持された吸着剤または微粒子の使用がフィルター技術に採用されてきた。例えば、下記の米国特許を参照のこと。

Wicks他による2143044号

Briggsによる2746608号

Pall他による3238056号

Bodendorf他による3253978号

15 Pall他による3591010号

Ostreicherrによる4007113号

Samejimaによる4160059号、および

Halbfosterによる4238334号

20 Bodendorf他による米国特許3149023号に記載されているように、均質に分布しそしてその中にしっかりと保持された粒子を有するシート上に炭素が適用されてきた。該Bodendorf他によるシートは、タバコのフィルター、空気フィルター、ガスフィルター、大気中のガスによつて変色または変質をうける果実および材料用の包装材、衛生ナプキン用のラミネートシート製品中の脱臭層として、および傷の外科用包帯用として等に使用される。

30 上記の特許に記載されているように、これと幾分似ているシート類が、ペーパーおよび薄層クロマトグラフィに採用されてきた。

35 Malcolmによる米国特許3647684号に、カチオン性澱粉のようなカチオン性材料の無秩序配向網目中に配置されたガラス繊維のような少量の構造安定化無機繊維にて均一かつ均質に分散された珪酸のような主要割合のクロマトグラフ用吸着剤を有する、自己支持性可撓性シート構造物の形をとる薄層クロマトグラフィ材料が教示されている。

40 Leifieldによる米国特許3455818号には、従来の薄層またはペーパークロマトグラフィと同じ一般的態様にて実施されるクロマトグラフィに有用な吸着剤シートが教示されている。繊維状ガラスのような非セルロース系材料の微細繊維を高割合の

望ましい粉状収着剤と共に、多孔性支持体に流される適当な液状媒体中に分散させそして次に該液体を除くことによつて、該シートは製造される。一枚または数枚の該シートを小型のロールに巻きそしてシート間の界面が移動層の流れに平行かつ流路にあるようにガラスのチューブまたはシリンダーに挿入することによつて、該シートはカラムに使用できる。

分子分離カラム用の繊維またはフィラメント型の充填が採用されてきた。例えば、Miller他のザ・コース・オブ・テクスタイル・ヤーンズ・イン・セパレーション・プロセス（分離工程における織物綿糸の使用）、テクスタイル リサーチ ジャーナル、1980年1月、10頁以降、Brown他のマクロレティキュラー・レジン・カラムズ、Iモデル・オブ・ベンド・アンド・フィラメント・パッキングズ（巨大網状樹脂カラム I、ベンドおよびフィラメントパッキングのモデル）、セパレーション サイエンス アンド テクノロジー、15(a)、1533~1553頁（1980）、およびPartridgeのネーチャー、1123~1125（1967年3月18日）を参照のこと。分子分離充填用の繊維の使用を示唆する他の参考文献には下記がある。

Dutzetalによる米国特許3570673号、

Norem他による同3307333号、

Pretorius他による米国特許4169790号、および

Wiegand他による米国特許4070287号。

特に、理論的なモデルが不満足であるクロマトグラフ工程において、実験室的結果をスケールアップすることが困難であることが、業界にて一般に認められている。この分野において実験室の実験から得られた知識にもとづいて商業的な設備を構築することが、主要な問題となつてきた。当業者によれば、大きな樹脂のカラム（例えば有機ゲルカラム）を使用することは、圧縮のため分離が不良となりそして溶出した成分が過度に希釈されるため、望ましくない。これらの両因子は該工程を不経済なものとする。カラムの頂部から液体を均一に導入する場合、液の前部の部分が残量の液体の移動速度と異なる速度にて下方向に移動し、床中に「テイリング」および「フィンガーフォーメーション」を生じさせる。この問題を回避するには、カラム頂部へ供給される各液体もしくは溶出液の前部端もしくは導入端部が均一な速度で下

方向に移動し、前部が水平面にある狭いバンドにて実質的に残存することが望ましい。

これらの従来技術の問題は、例えば米国特許3250058号にてBaddourによつて検討されている。5 細い実験室用カラムを使用して良好な分離が達成されるが、直径5 cmまたはそれ以上のカラムを用いて技術的もしくは商業的規模にて分離を再実施しようとする、該カラム中に「テイリング」および「フィンガーフォーメーション」が生起することが見出される。これらは両者とも希釈および不良な分離の結果をもたらす。Baddourは、カラム内に横切っているパツフルの配列を導入してカラムを流れる液体の側部の流れを生起させて、この問題を克服しようとしている。更にBaddourは、側部のパツフルと組合せてこれらのパツフルを使用することが必要であることを見出している。10

大規模のカラム中の縦方向の強制流れの考え方は、米国特許3539505号においてLauer他によつて更に開発された。彼等は放射状混合用の装置をカラムに導入し、またはドイツ特許出願DOS2036525号に記載されているようにカラムを数個の短い部分に分割した。この問題に対する他の試みが、ドイツ特許出願DOS2224794号および日本特許明細書昭48-68752号に記述されており、これらによればカラムが分離されるべき溶液によつて飽和されている。この飽和されたカラムおよび向流によつて、該カラム中の密度勾配によつて生ずる妨害が回避される。20

上述の幾分複雑化された方法によつて、大規模のクロマトグラフ分離工程を商業的基準で実施することが可能となる。しかしこれらの方法は、複雑なカラムの構造および商業的規模にて実施困難である方法をもたらす。カラム内に組込み構造が存在する場合、例えば樹脂が逆洗される際に実質的な問題が発生する。供給物または溶出液が樹脂床上に蓄積しそのためカラムの性能が能率において徐々に低減するので、或サイクル数の後にこれらの工程にて逆洗が必要とされる。カラム中の組込み構造物はこのような状態において厄介である。飽和樹脂床および向流の考えも、ドイツ特許出願DOS2224794号に記載されている複雑な構造または系を操作する複雑な工程をもたらす。30

米国特許3856681号においてHuberは他の試み

を記載している。この場合、細長い棒状の要素がカラムの軸に平行に配置されたが、これらの要素は難しいカラムの充填および不均一な流体の流れを生じさせる非対称的なカラムの断面を形成しそしてまたカラムの全般的な生産量を限定していた。

米国特許3856681号において、主要な流体の流れの軸に対して実質的に垂直に延長しておりそして層間に設置された比較的不活性な仕切り手段によつて互いに横に好ましくは間隔をおいた層の厚さ寸法にて互いに隣接して配置されたクロマトグラフ材料の複数の層を使用して、調製もしくは製造用クロマトグラフカラムを横切る均一な流れを得ることを、Huberは試みている。必要に応じて、クロマトグラフ材料の比較的大きな粒子または比較的不活性な材料をクロマトグラフ材料層中に均一に分布させて、最終カラムを通る全般的な圧力低下を低減させることができる。クロマトグラフ材料の表面は、移動相の流体の流れに平行でありそして同方向である。

米国特許4211656号においてAoDonald他は、微粒子充填材料を三軸方向に圧縮したカラムを通る均一な流れを確保するカートリッジを記載している。

固形相「系」が広義に多孔性の繊維マトリックス中に固定化された微粒子体であるならば、移動相が固形固定相を通つて流れるカラムが従来のクロマトグラフィ充填理論に直接に相反して構成できることが、見出された。この新規な固定相は商業規模の分離そして特に液体の分離に特に適当である低度の圧力低下および低度の拡散抵抗の両者の利点を有する。パツフルの配列は不要である。その結果として、良好な圧力応答性、無チャネリング性または流体の無側路性、再生性再使用の容易な再現性、および環境条件下に輸送または無期限に貯蔵される能力を有する、高容量かつ短い実施時間の安定な高流量の分離カラムを構成することが可能である。更に、この新規な固定相は分離カラムの内壁と協同して実質的に液密性のシールをそれと形成して、これによつて壁近辺のチャネリングを防止する。

発明の概要

本発明に従つて、それを通つて流れる試料の成分の二相間の分布差を達成する分子分離カラムが

提供される。カラムは固定化された微粒子を有する多孔性の繊維マトリックスを含む固形固定相を含有し、繊維または微粒子の少くも一員そして好ましくは微粒子が分子の分離に効果的であり、そしてマトリックスは各成分に関して実質的に均質である。液-固体流通分子分離に使用する場合、圧力低下および拡散抵抗が低減され、その結果、分析的な分離のほかに、カラムは商業規模の液体の分離に使用できる。

また、このようなカラムを使用する分子分離を達成する方法が提供され、ならびにこのようなカラムに使用するための固形相が提供される。

同様な微粒子を含有する従来のカラムと比較して、本発明のカラムは低度の圧力低下を発揮し、高い圧力に対して感受性がより少なく（例えば、10mm直径のカラム中における154kg/cm²の圧力はカラムの性能に影響を与えない）、軸方向へ一層の分散を発揮し（従来のカラムは物質移動抵抗による分離された成分のより大きな分散を示す）、高度の試料供給量にてより良好な分離を示し、流速に対する感受性がより少なく、そしてより均一なピーク形を示す。

本発明の固形固定相は、商業規模のクロマトグラフ分離においてそして特に高容積そして高分子量の分離に対して利点を有する。実験によつて、多孔性マトリックスは、多分開放性マトリックス中の改善された流れの分布のために、微粒子単独の場合よりも大きな渦拡散をもたらすそして70%の微粒子にてより低い拡散抵抗を有することが示された。この比較的高い渦拡散および低い拡散抵抗によつて、多孔性マトリックスはクロマトグラフ分離に関する二つの独特な特徴、すなわち低い拡散係数による成分の改善された分離および一層均一なピーク形を有することが示唆される。

従来のクロマトグラフィの理論は線状吸着等温線にて分離を設計するには非常に好成績である。多くの分離は低試料濃度では明らかに線状であるが、商業性の分離は比較的高濃度が多くそして非直線状である。高い試料濃度にて得られる本発明の固定相の能率は、それが商業的な分離に効果的であることを示している。

発明の目的

本発明の一目的は、新規な分子分離用の固形固定相材料およびこのような材料を含有するカラム

を提供することである。

本発明の他の一目的は、低度の圧力低下および低度の拡散抵抗の特徴を有し、これによつて商業規模の分離をして特に液体の分離に特に適合させる新規な材料を提供することである。

本発明の別の目的は、良好な圧力応答性、無チャンネリング性、または流体の無側路性、再生性再使用の容易な再現性、および環境条件下に輸送または無期限に貯蔵される能力を有する、高容量かつ短い実施時間の安定な高流量の分離カラムを提供することである。

本発明の更に他の一目的は、分離カラムの内壁と協同して実質的に液密性シールを形成しそしてこれによつて壁近辺のチャンネリングを防止する新規な固形固定相材料を提供することである。

本発明のこれらの目的および他の目的は、下記の記述から当業者に明らかとなるであろう。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明による充填分子分離用カラムの一態様の立面断面図であり、

第2図は、本発明による第1図の分子分離用カラムの使用を説明するブロック図であり、

第3図は、本発明による分子分離用カラムの使用を説明する第二の態様のブロック図であり、

第4A図および第4B図は単純な繊維／繊維の充填を示し、

第5図および第6図は、例1および2の分離にて得られたクロマトグラムであり、

第7図は、例1から得られた線速度の関数としてのカラム能率のプロット図であり、

第8図は、例1から得られた線速度における因子 k' の依存性を示すプロット図であり、そして

第9図および第10図は、例4から得られた本発明の固定相の、ヴァン デー・ムター (Van Deemter) プロット図 (収着能率) および容量のデータを示す。

発明の記述

この明細書を通して使用される、「分子分離」という用語は、試料内に含有される種々の分子の寸法差、物理的特性または化学的特性を利用することによる試料の成分の分離を意味する。「カラム」という用語は、少くも1cmそして好ましくは2cmより大きい合計の深さを有する、形状が通常は円筒状のしかし必ずしもその必要はない。容器

を包含する。固形固定相を指称するためにこの明細書にて用いられる「均質な」または「実質的に均質な」という用語は、該固定相がカラムを通る試料の流れに対して横切る平面にて均一または実質的に均一な構造および／または組成であることを意味する。

第1図は、本発明に従つて試料の成分の二相間の分布差を達成する好ましい分子分離カラム10を示す。該カラム10は、固形固定相要素12の多数の円板状物を含有する、ガラス、鋼鉄、プレキシグラス等のような適当な材料から製作できる円形断面の中空のシリンダー11である。該要素12の端部13はシリンダー11の内壁と液密性シールを形成する。該液密性シールはいくつかの方法にて達成できる。一つの態様において、要素12およびシリンダー11の内部の寸法は、予備の充填物が該要素を圧縮するように適合された摩擦によつて要素12がしっかりとそこに保持されるようにする。これは、シリンダー11の内壁および要素12の両者に非常に精密な寸法的公差が必要とされる。個々の要素12は、押棒もしくはピストンのような或る機械的手段によつてシリンダー11中に通常挿入される。水性の移動相がカラムを通過する場合に適当である好ましい一態様において、要素12は親水性でありそして移動相と接触する際に若干膨張して、シリンダー11の内壁と必要とされる液密性シールを形成する。このような場合、シリンダーの内部表面および要素12の寸法的公差は摩擦密着の場合ほど精密である必要がない。

カラム10には、ボルト16によつて保持される入口のキャップ15およびボルト18にて保持される出口のキャップ17が含まれる。入口キャップ15はスペーサー要素によつてシリンダー11と間隔をあけた関係に維持される。ガスケットリング19および20が、キャップ15および17とシリンダー11との気密性シールを維持する。入口キャップ15には、カラムに導入される液体を受入れる入口オリフィス21およびシリンダーの口径を横切つて入ってくる液体を分布させるための入口拡散器22が設置される。出口キャップ17には、カラム内に要素12を保持する支持スクリーン23および分離された液が分析用の試料検出器へ排出される出口オリフィス24が設

置される。

第2図は、第1図のカラムの使用を図形状に説明するものである。例えばFisher scientificおよび MCB High - Pressure Liquid Chromatography(HPLC) 級の溶剤のような適 5 当な溶剤を、1~12ml/分の流れを提供する AMF Cuno Divisionから入手し得るような定容ポンプ101によつて、溶剤容器100から循環することができる。2メートルの長さの外径0.16 cm×内径0.08cmのステンレス鋼チューブであり圧 10 力計つきのT継手と接続されたものであり得るバルス減衰器102が、カラム104の頂部の Valco六口注入バルブ103とポンプ101を連結する。溶出液用の適当な検出計105には、能率の検討およびフェノールの分離用の 15 Pharmacia254UV検出計および容量の検討および254nm以外の波長を必要とする分離用の Varian(Palo Alto, California) Vari-Chrom UV Visible Spectral Photometerが含まれる。可変範囲ストリップチャート記録計106が両者の 20 検出系の使用を可能とすることができる。

第3図は、本発明によるカラムの使用の他の一態様を図形状に説明するものである。適当な容器 200からの溶剤が、高圧バルス減衰器202、ブルドン型圧力計203およびバルブループ注 25 入器204に直列もしくは並列に連結し得る一個以上の高圧ポンプ201によつてバイパス回路206が取付けられているカラム205中へ循環される。該カラムの溶出液は254nm固定波長フイルターフォトメーター207へ流れ、これは適当 30 な記録計208で連結され、そして該溶液は次いで排液受器209へ流される。

固定相はその中に固定化された微粒子を有する多孔性の繊維マトリックスを含み、該繊維または微粒子の少くも一員は分子の分離に効果的である。多孔性マトリックスはその各成分に関して実質的に均質である。好ましくは、微粒子が分子の分離に効果的である。分子分離微粒子は、望ましくは分子の分離を達成する有効量にて固定相中に含有されるべきである。多孔性マトリックスは、 40 実質的に不活性でありそして寸法的に安定であることが好ましい。第1図に複数の円板形の要素の使用を図示するが、必要に応じて等価長さの単一カラム要素も使用することができる。

本発明にて使用できる好ましい微粒子には、微細に分割された形状にて提供されそしてクロマトグラフの機能性を発揮できる、すなわち効果的な分子の分離が可能である材料のすべてが含まれる。このような組成の混合物も使用し得る。この 5 ような微粒子の例には、シリカ、アルミナ、珪藻土、バーライト、パーミュキュライト等の粘土、活性炭等の炭素、イオン交換樹脂等の改質ポリマーの微粒子、結晶性セルロース、モレキュラー 10 シーズ、等があり、これらの表面は慣用の態様にて改質し得る。

このような材料は、Biosila、Hi-Flosil、LiChroprep Si、Micropak Si、Nucleosil、Partisil、Porasil、Spherosil、Zorbax Sil、 15 Corasil、Pallosil、Zipax、Bondapak、LiChrosorb、Hypersil、Zorox、Perisoro、Ffactosil、Corning Porous Glass、DowexおよびAmberlite、resins、等の商標名にて商業的に入手可能である。

分子の分離に効果的な微粒子を記述している参照文献の例には下記がある。

Millerによる米国特許3669841号、

Kirkland他による米国特許3722181号、

Kirkland他による同3795313号、

25 Rognierによる米国特許3983299号、

Changによる米国特許4029583号、

Stehlによる同3664967号、

Krekelerによる米国特許4053565号、および

Iherによる米国特許4105426号。

30 これらの文献のすべての全開示を参照としてこの記載に包含させるものとする。

微粒子の粒径は厳密なものではないが、処理される試料が本発明のカラムを通過する際の流速に幾分影響をおよぼす。通常、約5ミクロンよりも 35 大きい均一粒径が好ましく、10~100ミクロンが実用的な操業範囲を占める。微粒子の量は、固形固定相の約10重量%から80重量%またはそれ以上まで広範囲に変化し得る。現在のところ微粒子の濃度が大きい方が一層望ましいようであるが、最適に微粒子濃度は望ましい分子の分離に応じて変化するであろう。

多孔性繊維マトリックスは、その中に含有される微粒子を固定化することができる、すなわち固定相からの有意の微粒子の損失を防止しそして流

体がカラムを通過するのを可能とする多光度を有することのできるマトリックスであればよい。好ましくは、多孔性マトリックスは繊維の自己結合性マトリックスから構成される。本発明に使用し得る適当な繊維には、ポリアクリロニトリル繊維、ナイロン繊維、レーヨン繊維、およびポリ塩化ビニル繊維、木材パルプおよび木綿のようなセルロース繊維、および酢酸セルロースが含まれる。本発明の好ましい固定相は、セルロース繊維の自己結合性マトリックスから構成される多孔性マトリックスを含有する。

商業および産業用の結合性のそして取扱い易い構造であるマトリックスを提供するためには、多孔性マトリックスを形成しようとする成分の少くも一員が長い自己結合性構造の繊維であることが望ましい。このような繊維は、湿潤した「形成されたままの」状態および最終の乾燥した状態の両者において、固定相に十分な構造的保全性を与える。このような構造によつて、相の取扱いそして特に加工中およびその意図された使用時にシート

の取扱いが可能となる。このような繊維は、6~60マイクロメートルの範囲の直径にて典型的に入手し得る。例えば、木材パルプは15~25マイクロメートルの範囲の繊維の直径および約0.85~約6.5mmの繊維長を有する。

好ましい長さの自己結合性構造の繊維は、+400~+800mlのカナダ規格湿度を典型的に有する、通常の寸法のマニラヘンプ、ジュート、カロア、シザル、漂白または無漂白のクラフト、コズ(kozu)等のようなセルロースパルプから好ましく得られる。このような長い自己結合性繊維は、多孔性マトリックスの50重量%より多い部分、好ましくは約66~90重量%そして最も好ましくは75~85重量%を構成するであろう。

多孔性マトリックス中に固定化された微粒子の

量が低いすなわち該材料の約50重量%未満である場合、+400~+800mlのカナダ規格湿度を有する通常のセルロースパルプの自己結合性マトリックスから多孔性マトリックスが形成されることが好ましい。

本発明の好ましい態様において、高量すなわち固定相の約50重量%より多い多孔性マトリックス中に固定化された微粒子を有することが望ましい。従つて、固定相中にこのような高含量の微粒

子を維持するために、Hou他による米国特許出願123467号に記載された本発明を採用するのが高度に望ましい。この出願の発明の全開示を参照としてこの記載に包含させる。広義には、約+100~-600mlのカナダ規格湿度に精製された少量部分のセルロースパルプを、多量部分の通常寸法のセルロースパルプ(+400~+800ml)に含有させる。特に固定相の約1~約10重量%の精製パルプおよび約10~約30重量%の通常セルロースパルプが固定相中に含有され、残部は微粒子である。一般に、未精製パルプ対高度精製パルプの重量比は、約2:1~約10:1、そして好ましくは3:1~約5:1の範囲であろう。パルプのこのような混合物によつて、固定相の約80重量%以上までの微粒子の保持が可能となる。

固定相中の微粒子の量は、固形相の10重量%の少量から約80重量%までであり得る。好ましくは、約50~80重量%の量が採用される。

好ましくは、固定相を形成するシートは、このような通常のセルロース繊維、高度に精製された木材パルプおよび微粒子の水性スラリーを減圧フェルト処理して形成される。これによつて、多孔性マトリックス中に固定化された微粒子を有するシートが形成される。このシートは、優れた流れ特性を有する均一な高多孔度の微細孔寸法の構造を示し、そして繊維および微粒子に関して実質的に均質である。

必要とされる成分を水に加えて水性スラリーを形成する順序は、スラリーが混合工程中に調節された流体力学的剪断力を受ける限り、比較的重要ではないようである。好ましくは、精製パルプを未精製パルプのスラリーへ添加しそして次に微粒子をその中へ添加する。スラリーは約4%のコンシステンシーに通常調製され、そして次に減圧フェルト処理シートの形成に必要とされる適当なコンシステンシーに更に水を用いて希釈される。この後者のコンシステンシーはシートを形成するために使用される装置の形式に応じて変化するであろう。典型的に、スラリーは多孔質表面に注がれ、減圧フェルト処理され、そして来法にて乾燥される。この平らな寸法安定性のシートは望ましい厚さであることができ、そして次に各型式のカラム用の適当な寸法に切断される。別法として、クロマトグラフのカラムに収容される通常は

円板の形状の要素が、乾燥混合およびプレスによつて製造できる。また、固定相のカラムを、例えばスラリー充填技術によつて、現場で形成することもできる。

本発明の固形固定相の形成において、化学的結合剤および添加物を使用し得る。しかし、分子の分離を劣化させる化学的処理を存在させるべきでない。

本発明による好ましい分子分離カラムは、通常非常に精密な内径を有するシリンダーの形状であるカラムのケース中に充填された複数の要素すなわち切断された円板状物もしくはパッドを含む。この円板状物は、シリンダーと同じ直径に切断されそしてシリンダー中に適当な高さに積み重ねられる。円板状物およびシリンダーは好ましくは、円板状物がシリンダー中へ必要とされる深さに容易に押込められるが重力下に落下しないように適合された妨害の状態であるべきである。カラムが乾燥充填された後に、高圧ポンプを使用して、このカラム中に積み重ねられた要素を通して溶剤をポンプ輸送することができる。好ましくは、この要素は膨潤してシリンダー壁に対して実質的に側路のない端部シールを形成する。溶剤の前流端は僅かしかまたは全く斜行がなく非常に均一である。個々の要素は寸法的に安定であるので、他のクロマトグラフ材料そして特に有機ゲル材料と共通かつ主要な問題である配向または取扱いに対してカラムは感受性でない。

一般に、本発明の分子分離カラムにて達成される流速は、従来のゲルまたは充填粒子カラムにて得られる流速よりも実質的に高い。また本発明のカラムは、従来のゲルまたは粒子カラムと比較してカラムの直径が殆ど制限されないので、優れた容量を有する。

本発明の分子分離カラムは、従来のカラムにて通常達成される良く知られている分子の分離に使用し得る。

更に、本発明のカラムは従来のカラムが非実用的である分野においても有用性が見出し得る。例えば、前記の関連出願である米国出願のHouによる「プロセス・フォア・ブリベアリング・ア・ゼロ・スタンダード・セラム」および同238686号のCone他による「ティッシュュー・カルチャー・ミedium」を参照のこと。

本発明前の典型的なクロマトグラフの分離は、多くの場合非常に微細な球形の、均質な固形固定相材料の開発をもたらした。クロマトグラフの分離の従来の理論的検討によると、高度の分離および実用的な圧力低下および採用可能な流速のために、分析型のカラムは非常に固有の表面特性を有する極めて小さな球状のそして均一な粒子必要とするとの結果が導かれた。本発明の固定相のように、比較的非均質な粒子の使用すなわち二形態（二寸法）の繊維マトリックス中に分布された広い寸法の分布の繊維および微粒子の使用は、クロマトグラフの分離について知られていたすべてに直接に相反している。

考慮されるべき本発明の固定相の変数は特に下記の通りである。

- (1) 使用される繊維または繊維類の種類、
- (2) 繊維の各種類の縦横比 (L/D) (初期および精製後)、
- (3) 混合物中の各成分の容量パーセント、
- (4) 使用される微粒子または微粒子混合物の種類、
- (5) 微粒子の直径 (球状の場合) または粒子の形状の他の寸法 (縦横比等)、
- (6) 固形物の量 (円板状物の形成に使用された S/L)、
- (7) 微粒子の寸法 (直径) 対繊維の直径の比 (R)、
- (8) 使用された樹脂または結合剤 (使用の場合) の種類、
- (9) 使用された微粒子 (または繊維) の表面改質、
- (10) シートを形成するためのスラリーに使用された溶液の種類 (水、アルコール、溶剤)、
- (11) スラリーの添加 (湿潤剤、不純物等)、および
- (12) フェルト処理条件。

繊維のマトリックス (例えば精製バルブおよび高度精製バルブ) および表面活性微粒子を使用しまたは繊維をそして必要に応じて結合剤系を含有するかもしれない特定の表面特性のために使用前に化学的に処理もしくは誘導した微粒子混合物を使用して、本発明の固定相を設計すると仮定する場合、固定相の設計において下記の単純化した検討が当業者に役立つであろう。

高いバルク因子を有する固定相が望ましい。高度の圧縮強度を有する開放性もしくは多孔性のマトリックスが、低い圧力低下にての高流速に必要とされる。これらの特性は、繊維マトリックスによつて主に決定されそして構造中の微粒子の保持と両立せねばならない。従つて、最適の混合物は微粒子毎に変化するであろう。

繊維が種々の L/D 比の剛性の棒でありそして微粒子添加物が性質として球状であると検討上仮定すると、構造的見地からの固定相の設計の問題は繊維と繊維および繊維と球との充填を理解する問題となる。単純な繊維／繊維の充填を第4A図および第4B図に示す。単純な繊維系の密度は繊維の L/D 比の関数であり、低い L/D 比はより高い密度またはより低い間隙体積をもたらす。種々の剛性繊維の L/D 比の関数としてのかさ体積が知られている。かさ体積は繊維材料に本質的に依存しない（低モデュラスの可撓性繊維は異なる効果を有するであろう）。繊維の混合物を考察すると、この問題は幾分複雑となりそして得られる充填能率は繊維の L/D 比の割合によつて決定される。同直径の繊維の場合、長繊維の間隙体積中へ適合するのに十分に短い繊維がより低いから密度の材料を構成するであろう。或る他の繊維の寸法比は、得られるかさ体積を増加または減少することができる。

均一な球は、重溶的に充填させるならば、六方充填層を形成するであろう。占有体積、間隙体積、表面積、および表面積対間隙体積の比によつて球の直径の影響を、第1表に示す。

第 1 表

六方充填の球

カラム直径7.6cm、長さ30.5cm

| | 0.3cm球 | 0.15cm球 |
|---------------------|--------|---------|
| 占有体積、 cm^3 | 871.5 | 836.5 |
| 間隙体積 V_i 、 cm^3 | 517.9 | 552.3 |
| 表面積(S)、 cm^2 | 16588 | 31850 |
| S/V_i | 78.5 | 145 |

予期されるように、表面積対間隙体積はより小

さい直径の場合急激に増大する。また合計の間隙体積は僅かに増加するだけである。しかし、この表に示されていないことは、間隙体積が僅かだけ増加するが、間隙を通る経路中の各成分は非常に小さくなる（より小直径の粒子の場合圧力低下が大きくなる）ので経路が非常により曲折化することである。間隙体積対表面積の比は、典型的なクロマトグラフカラムにおいて液相から固体表面への物質の平衡分布を主に決定する因子であるので、重要である。この単純球充填のモデルは、圧力低下が過大とならない限り、何故小直径の均一球がより有用なカラムを与えるかを示す。典型的に、5~10 μm の粒子直径が液体クロマトグラフにおいて普通である。小さな球を大きな球と混合する場合、かさ体積はそれらの直径および体積の分数の関数である。

単純な均一繊維を均一な球と共に充填する場合、能率的な球の充填は突然に妨害され、そしてかさの因子は繊維の L/D 比および球の直径対繊維の直径の比 R および各成分の体積の割合の関数である。これを第2表に表示する。第2表によつて、各成分の寸法および量に応じて複合ブレンド物の場合可能である大きな密度差が示される。

第 2 表*

繊維-球充填の理論的固形物含量%

| 使用した繊維の% | L/D | | | | | | | |
|----------|-----|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| | R | 1.00 | 2.00 | 3.91 | 7.31 | 15.51 | 24.49 | 37.10 |
| 10 | R=∞ | 68.5 | 68.5 | 68.5 | 68.5 | 68.5 | 68.5 | 61.0 |
| | R=0 | 64.1 | 64.1 | 64.1 | 64.1 | 64.1 | 64.1 | 64.1 |
| 20 | R=∞ | 77.0 | 77.0 | 77.0 | 77.0 | 69.0 | 56.2 | 44.3 |
| | R=0 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 66.7 |
| 30 | R=∞ | 87.7 | 87.0 | 83.3 | 77.5 | 60.0 | 46.2 | 34.5 |
| | R=0 | 69.5 | 69.5 | 69.5 | 69.5 | 69.5 | 68.5 | 45.5 |
| 40 | R=∞ | 85.5 | 83.3 | 78.7 | 72.0 | 52.9 | 39.1 | 28.6 |
| | R=0 | 72.5 | 72.5 | 72.5 | 72.5 | 72.5 | 51.3 | 34.2 |
| 50 | R=∞ | 82.7 | 80.6 | 74.6 | 67.2 | 47.2 | 34.1 | 24.2 |
| | R=0 | 76.4 | 76.4 | 76.4 | 76.4 | 62.5 | 41.2 | 27.5 |
| 60 | R=∞ | 80.0 | 77.5 | 71.0 | 62.9 | 42.7 | 30.2 | 21.0 |
| | R=0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 80.0 | 51.8 | 34.2 | 23.0 |
| 70 | R=∞ | 77.5 | 74.6 | 67.6 | 59.2 | 39.1 | 27.0 | 23.0 |
| | R=0 | 84.0 | 84.0 | 84.0 | 72.5 | 44.5 | 29.4 | 19.7 |
| 80 | R=∞ | 74.6 | 72.0 | 65.0 | 56.2 | 36.0 | 24.5 | 16.7 |
| | R=0 | 88.5 | 84.0 | 74.6 | 63.3 | 39.0 | 25.8 | 17.5 |
| 90 | R=∞ | 72.5 | 69.5 | 62.2 | 53.2 | 33.4 | 22.4 | 15.1 |
| | R=0 | 78.7 | 74.6 | 66.2 | 56.2 | 34.5 | 23.0 | 15.4 |
| 100%繊維 | | 70.5 | 67.1 | 59.5 | 50.3 | 31.1 | 20.7 | 13.8 |
| 100%球 | | 61.5 | 61.5 | 61.5 | 61.5 | 61.5 | 61.5 | 61.5 |
| 理論的最大値 | | 88.5 | 87.4 | 84.4 | 80.6 | 73.5 | 69.5 | 66.7 |

* Milewski, John v., 「繊維および球の二形態充填における最大充填条件の固定」
29th annual Reinforced Plastics Composites Conference, 1974年2月。

混合物が繊維寸法の混合物（種々のL/D）および球寸法の混合物（二形態、三形態、等）からなる場合、より適当な材料を見出すために充填密度は複雑な関数関係となる。より高いかさ体積は高流速をもたらすが、圧縮強度が差引かれる。他の粒子の形状および他の繊維モデュラス（すなわち非剛性繊維）は、更に複雑性を増加するであろう。

充填された均一な球のカラムから始めそして少量の繊維を添加する場合、得られる混合物の間隙体積に大きな変化を生じさせるのに非常に少しの繊維を要する。間隙体積対表面積の比は、合計の間隙体積に寄与する個々の体積の大きさの増加に従って増大するであろう。これはより高度の測速をもたらすが、成分の分離に寄与する分布平衡が

犠牲となる。これらの影響の相対的大きさに関して、文献は明らかにしていない。活性微粒子の良好な均一分布と両立する高い間隙体積の体制が存在し得るが、間隙体積要素対微粒子の表面積の或る比においてもこれは良好な材料の分離特性と両立する。これらの構造の変化は、拡散が生起する距離、混合および流れの混乱の程度、液体の曲折性および他の性質に影響するであろう。従って、各特定の系に関する最適の構造は経験的な範囲にある。

操作の態様の理論的説明にかかわらず、本発明のカラムは実質的に低減された圧力低下およびより均一なクロマトグラフィのピークを有することを特徴とする。本発明のカラムは、調製用クロマトグラフィならびに分析用クロマトグラフィに

著しく適切である。

本発明を更に説明するために、以下に種々の例を示す。これらの例においてそしてこの明細書および請求の範囲において、特に指摘しない限り、すべての部およびパーセンテージは重量によりそしてすべての温度は摂氏である。

例 1

平均直径約20ミクロン、平均長さ約0.16cm、カナダ規格炉水度+600mlのバイエルハウザーコホ (Weyerhaeuser Coho) のさらしクラフトをブラック クラウセン (Black Claussen) のツインディスク型精製機にて、カナダ規格炉水度-250mlに精製した。この精製パルプ、未精製パルプおよび約15ミクロン径の未改質シリカゲルを強く攪拌した水に加えて、約4%のコンシステンシーを有する水性スラリーを形成した。このスラリーを2%のコンシステンシーに希釈し、次いで約16cm直径の手すき装置にて100メッシュのスクリーンを用いて減圧フェルト処理した。装置からこのシートを取り出し、そして一定の重量に達するまで約175°Cの静止炉 (static oven) 中で乾燥した。このシートは、70%のシリカ微粒子および30%の木材パルプ繊維 (24%の未満製パルプおよび6%の高度精製セルロースパルプ) を含有していた。この微粒子は15ミクロンの公称平均粒径、320M²/gの表面積および1.1ml/gの細孔体積を有するシロイド (Syloid) (W.R.Grace社) であった。

円板状シートを作製し、そして長さ50cmの内径10mmを有する精密口径のステンレス鋼のチューブに直径9.5mmの木材の合せ棒を用いてこの円板状シートを充填した。円板シートを、スクリーン面を下向きにしてカラム中へ個別に手で充填し、そして各円板シートを同程度に圧縮するように努力

した。

走査電子鏡検法によつてシリカを検査すると、粒径が1~40ミクロンの範囲のシリカ粒子の存在を示した。これは、不均質寸法の粒子の充填床によつて形成される高度の圧力低下および無ピーク性対称形のために、クロマトグラフの用途に一般に不適当である特性である。この全体の粒径範囲がセルロースのマトリックス中に連行されて残存していた。若干のシリカがフェルト処理工程中に失われ、最終の複合物は64%の微粒子を含有していた。シリカ粒子は小さな高度に積製されたバルブによつて結合されているようであった。そして実際に、このような繊維は接点にてシリカの表面に化学的に結合され得る。この完全に充填されたカラムは、15.7グラムの複合物材料および32.5mlの空隙体積 (すなわち全カラム容積の83%) を有していた。

三成分を含有するテスト用混合物を調製した。この成分は、保持されなかつた ($k' = 0$ 、トルエン)、僅かに保持された ($k' = 2 \sim 3$ 、ジブチルフタレート「DBP」) およびよく保持された ($k' = 5 \sim 6$ 、ジメチルフタレート、「DMP」) 溶質のためのピークの分散についての情報を提供するように選定された。移動相の組成物 (ヘプタン中の0.2%イソプロパノール) は、固定相上のこれらの成分の適当な保持を与えるように調節された。カラムを0.2~19.9ml/分の流速にてテストし、そしてクロマトグラフの特徴 (圧力低下、容量因子、およびH) を計算した。結果を下記の第3表に示す。この評価を通して複合物のカラムによつて表わされた高度のピークの対称形は、第5図に示す代表的なクロマトグラムによつて図示される。

第 3 表

| 流速 (ml/分) | 圧力低下 (kg/cm ²) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------|-------------------------------|--------------------|-------|-----|-------|-----|-------|
| | | t _m (分) | H(mm) | k' | H(mm) | k' | H(mm) |
| 0.2 | 2.1 | 166.43 | 0.51 | 2.3 | 0.65 | 5.6 | 0.85 |
| 0.5 | 4.2 | 65.46 | 0.57 | 2.1 | 0.79 | 5.2 | 0.85 |
| 1.0 | 8.05 | 32.48 | 0.65 | 2.2 | 0.90 | 5.5 | 0.87 |
| 2.0 | 15.75 | 16.83 | 0.71 | 2.1 | 0.97 | 5.4 | 0.98 |
| 4.0 | 29.75 | 8.46 | 0.73 | 2.1 | 1.05 | 5.4 | 1.06 |
| 6.0 | 44.8 | 5.69 | 0.79 | 2.1 | 1.12 | 5.5 | 1.09 |

| 流速 ($\text{ml}/\text{分}$) | 圧力低下 (kg/cm^2) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------|----------------|------|----------------|------|----------------|
| | | $t_m(\text{分})$ | $H(\text{mm})$ | k' | $H(\text{mm})$ | k' | $H(\text{mm})$ |
| 8.0 | 59.5 | 4.31 | 0.75 | 2.2 | 1.17 | 5.7 | 1.09 |
| 9.0 | 72.8 | 3.48 | 0.79 | 2.5 | 1.40 | 6.0 | 1.06 |

カラムを通しての圧力低下の増大は、 $70\text{kg}/\text{cm}^2$ までの圧力にて流速（線速度）の一次関数であることが見出された。これは微粒子充填床では意外ではないが、これらの圧力ではマトリックスの圧縮が実質的に生じなかつたことを示す。またこのカラムは、系の最大流速能力（ $19.8\text{ml}/\text{分}$ ）に相応した $154\text{kg}/\text{cm}^2$ の圧力低下に従った。 $6\text{ml}/\text{分}$ の流速にてクロマトグラフの変数をその後に再評価して、前に得られたもの（第3表）よりも僅かにだけ乏しい値（ $H_{\text{DBP}}=1.53$ 、 $H_{\text{DMP}}=1.17$ ）を得た。しかし、取付部品をはずした際に、カラムの入口端に 2.5mm の空隙が認められた。

固定相のクロマトグラフの能率におよぼす流速の影響を第7図に示す。曲線の一般的な形状は、多孔性シリカの充填カラムにて得られたものと似ている。従来のカラムの場合の初期のHの増加は本発明の多孔性マトリックスの場合よりも大きい。高流速における曲線の後の平坦化によつてこれは幾分相殺される。比較的一定のHの領域に*

*おける本発明のカラムの能率は30~35ミクロンの多孔性シリカ粒子にて得られたものに概略相応し、そして容量因子の本質的な変化は第3図に示すようにして検査される流速では認められなかつた。

例 2

比較用に、修正された均等（balance）密度スラリー技術によつて、 10.3g の同じシリカ微粒子を含有するように $25\text{cm} \times 10\text{mm}$ 内径のカラムを充填した。これは、例1に記述した 50cm カラム中に含有されるべく計算された 10g のシリカとほぼ同等であつた。このカラムを用いて得られたピークの対称形は、一般に不良（poor）でありそしてむしろ不均質な充填床を示した。充填粒子はその後の使用中にそして圧力が初期の充填圧力（約 $350\text{kg}/\text{cm}^2$ ）に近づく間に明らかに若干変動し、そしてピーク対称形は第6図に示すものに改善された。シリカカラム用に計算したクロマトグラフの変数を下記の第4表に示す。

第 4 表

| 流速 ($\text{ml}/\text{分}$) | 圧力低下 (kg/cm^2) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------|----------------|------|----------------|------|----------------|
| | | $t_m(\text{分})$ | $H(\text{mm})$ | k' | $H(\text{mm})$ | k' | $H(\text{mm})$ |
| 1.0 | 32.55 | 16.85 | 0.10 | 5.4 | 1.37 | 14.2 | 0.17 |
| 2.0 | 55.3 | 8.44 | 0.09 | — | — | — | — |
| 6.0 | 161.35 | 2.93 | 0.11 | 9.1 | 0.49 | 20.0 | 0.33 |
| 9.9 | 267.4 | 1.83 | 0.12 | 3.8 | 0.56 | 9.6 | 0.34 |
| 12.0 | 329 | 1.54 | 0.14 | 4.1 | 1.08 | 10.6 | 0.42 |

更に比較用に、94%の未精製セルロースおよび6%のカナダ規格水度— 250ml のセルロースを含有しそしてシリカを含まない複合物を、 50cm カラム中にて評価した。計算された変数を下記の第5表に示す。

第 5 表

| 流速 ($\text{ml}/\text{分}$) | 圧力低下 (kg/cm^2) | トルエン | |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------------|----------------|
| | | $t_m(\text{分})$ | $H(\text{mm})$ |
| 0.2 | 2.1 | 125.86 | 3.68 |
| 0.5 | 4.9 | 49.39 | 4.10 |
| 1.0 | 8.4 | 24.61 | 4.20 |
| 2.0 | 16.1 | 12.60 | 4.63 |
| 4.0 | 30.1 | 6.46 | 4.59 |

圧力低下は検査した全流速にて微粒子を含有す

る複合物の低下とはほぼ等しかつたが、非保持の溶質（トルエン）に対するピークの分散度ははるかに大であつた。フタレート化合物は多孔性セルロースマトリックスに保持されなかつた。

例 3

本発明の他の固形固定相材料のクロマトグラフの特徴を測定した。結果を下記の第6～9表に示す。

第 6 表

固定相は、公称50%のSIL01D620、7.5%の-250 μ CSF(カナダ規格濾水度)バルブおよび残量の未精製バルブを含有する。

| 流速 ($\text{ml}/\text{分}$) | 圧力低下 (kg/cm^2) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------|------------------|------|------------------|------|------------------|
| | | t_m (分) | H(mm) | k' | H(mm) | k' | H(mm) |
| 1.0 | 2.45 | 16.70 | 5.09 | 1.0 | 6.36 | 2.8 | 5.28 |
| 2.0 | 3.5 | 8.27 | 5.76 | 1.5 | 7.15 | 3.9 | 5.92 |
| 4.0 | 4.9 | 4.33 | 5.82 | 1.5 | 7.02 | 3.7 | 6.41 |
| 6.0 | 7.35 | 2.95 | 5.53 | 1.2 | 6.23 | 2.8 | 6.58 |
| 8.0 | 9.45 | 2.17 | 6.09 | 1.0 | 7.62 | 2.8 | 6.51 |
| 9.9 | 11.55 | 1.73 | 6.42 | 1.0 | 7.46 | 2.8 | 6.67 |

6.8gの固定相材料を含有する25 $\text{cm} \times 10\text{mm}$ 内径のカラム
空隙体積=16.7 ml =全カラム容積の85%

第 7 表

固定相は、公称44%のSIL01D620、6%の-250 μ CSFのバルブおよび残量の未精製バルブを含有していた。

| 流速 ($\text{ml}/\text{分}$) | 圧力低下 (kg/cm^2) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------------------------|-------------------------------------|-----------|--------|-----------------|--------|-----------------|--------|
| | | t_m (分) | H k' | (mm) | H k' | (mm) | H k' |
| 1.0 | 4.55 | 15.60 | 2.33 | 1.0 | 2.91 | 2.6 | 2.51 |
| 2.0 | 7.35 | 7.87 | 2.49 | 1.1 | 3.27 | 3.0 | 2.72 |
| 4.0 | 12.25 | 4.04 | 2.68 | 1.1 | 3.36 | 3.0 | 2.73 |
| 6.0 | 18.2 | 2.76 | 2.66 | 1.1 | 3.45 | 3.0 | 2.87 |
| 8.0 | 23.8 | 2.05 | 2.65 | 1.1 | 3.52 | 3.0 | 2.94 |
| 9.9 | 29.4 | 1.65 | 2.66 | 1.1 | 3.01 | 3.0 | 2.97 |

8.9gの固定相材料を含有する25 $\text{cm} \times 10\text{mm}$ 内径のカラム
空隙体積=15.6 ml =全カラム容積の80%

第 8 表

固定相は、公称19%のSIL01D620、6%の—250 mlCSFのバルブおよび残量の未精製バルブを含有していた。

| 流速 (ml/分) | 圧力低下 (kg/cm ²) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------|-------------------------------|--------------------|-------|-----|-------|-----|-------|
| | | t _m (分) | H(mm) | k' | H(mm) | k' | H(mm) |
| 1.0 | 3.85 | 14.76 | 0.54 | 0.7 | 1.16 | 1.9 | 0.81 |
| 2.0 | 6.65 | 7.48 | 0.55 | 0.7 | 1.31 | 1.9 | 0.85 |
| 4.0 | 10.85 | 3.78 | 0.59 | 0.7 | 1.49 | 1.9 | 0.91 |
| 6.0 | 16.1 | 2.56 | 0.62 | 0.7 | 1.49 | 1.9 | 0.97 |
| 8.0 | 21 | 1.89 | 0.64 | 0.7 | 1.59 | 2.0 | 0.99 |
| 9.9 | 25.9 | 1.56 | 0.61 | 0.7 | 1.67 | 1.9 | 1.04 |

9.9gの固定相材料を含有する25cm×10mm内径のカラム
空隙体積=14.8ml=全カラム容積の76%

第 9 表

固定相複合物は、公称30%のSIL01D620、10%の—250 mlCSFのバルブ、および残量の未精製バルブを含有していた。

| 流速 (ml/分) | 圧力低下 (kg/cm ²) | トルエン | | DBP | | DMP | |
|--------------|-------------------------------|--------------------|-------|-----|-------|-----|-------|
| | | t _m (分) | H(mm) | k' | H(mm) | k' | H(mm) |
| 1.0 | 4.55 | 15.60 | 2.33 | 1.0 | 2.91 | 2.6 | 2.51 |
| 2.0 | 7.35 | 7.87 | 2.49 | 1.1 | 3.27 | 3.0 | 2.72 |
| 4.0 | 12.25 | 4.04 | 2.68 | 1.1 | 3.36 | 3.0 | 2.73 |
| 6.0 | 18.20 | 2.76 | 2.66 | 1.1 | 3.45 | 3.0 | 2.87 |
| 8.0 | 23.8 | 2.05 | 2.65 | 1.1 | 3.52 | 3.0 | 2.94 |
| 9.9 | 29.4 | 1.65 | 2.66 | 1.1 | 3.01 | 3.0 | 2.97 |

8.9gの固定相を含有する25cm×10mm内径のカラム
空隙体積=15.6ml=全カラム容積の80%

例1のカラムおよび第3図に示す集成装置を使用して、フェノール類およびフタレート類の分離を実施した。得られた能率および容量のデータを

第9図および第10図にそれぞれ示す。
シリカからフェノール類を溶出するのに必要とされる0.3より大きい溶解力をもたすクロロホルム中の1%イソプロパノール液を移動相として使用して、フェノール類を分離した。流速は3.2 ml/分であり、そしてこの成分は10~25mgの間で変化した。この成分は、ベンゼン、o-クロロフェノール、p-フェニルフェノール、フェノールおよびp-ニトロフェノールの順に溶出した。最

初の二成分の分離は約90%、第三および第四成分の分離は約80%、そして最終化合物は98%より大であった。フェノールおよびp-フェニルフェノールは混合物のクロマトグラム中で単一のピークのように見えたが、純粋なこれらの成分は48.6 cm/時のチャート速度にて30mmの保持差を示した。純粋成分のクロマトグラムを重ねると、88%の分離が認められた。第9図に示すvan Deemterプロット図の最も注目すべき観点は該曲線の形状である。通常液体クロマトグラフィン場合、H値は低流速にて減小すると予期される。また、非常に低い流速では該H値が減少し始めそし

て次に鋭く増加し得ることが、文献に報告されていた。第9図に見られるように、流速が減少するに従って、H値は減少し、鋭く増加しそして最終的に再び減少し、従来報告されていなかった挙動の形態が示される。

第二のクロマトグラムの組を、ジメチルフタレート、ジエチルフタレート、ジブチルフタレートおよびジオクチルフタレートを分離して得た。使用した溶剤系は、ヘキサン中の7%クロロホルム液であり、流速は3.8ml/分であり、そしてチャート速度は40.6cm/時であつた。化合物は減少する分子量の順に溶出した。オクチルフタレートおよびブチルフタレートの場合の分離は95%以上であり、後者の二つの化合物の分離は92~94%であつた。混合物のクロマトグラム中のピークは、各化合物について18~22mgを示した。第10図は、本発明の固定相が少くも10mgの容量を有していたことを示す。

例 5

例4に記述した工程に従いそしてカラムを使用して、3.15cm/分の流速を用いてフタレート類の99%の分離のカラム変換を求めた。公称70%の微粒子を含有する固定相を用いて、分離時間は2.38分、圧力低下は約9.4kg/cm²、移動相が動いた距離は5.71cm、そして微粒子の合計量は1.14グラムであつた。シリカ微粒子カラムの場合、分離時間は1.08分、圧力低下は約20.6kg/cm²、移動相が動いた距離は1.54cm、そして微粒子の合計量は0.705グラムであつた。100%の微粒子カラムによるものと同程度の分離をするには、本発明の固定相を用いると実質的により長いカラムを必要とする。しかし、この追加的なカラム長は分離のための低い圧力低下によつて充分以上に相殺される。商業的な分離において、過度に高い圧力低下が高価なポンプおよび材料を必要とするカラムの処理量を限定または所与の分離に有効なカラム長を従つて理論的なプレート数を制限し得るので、分離材の圧力低下特性は極めて重要である。本発明の固定相は100%微粒子のカラムよりも実質的に低い圧力低下を有するので、非常に長いカラム長が可能である。

例 6

この例は、固形固定相の形成に使用される材料の組成が得られる固定相のクロマトグラフ効果に

およぼす影響を例示する。

シリカゲル、セルロース長繊維および高度に精製したパルプからなる8種類の水性混合物を調製し、そしてこの混合物を攪拌して均一とした。次いで、水性懸濁物をフィルター型へ注ぎ、水を除きそして複合材料のフェルトを形成した。第10表に示した実験計画に従つて、第11表に提示された水性懸濁物中に入れた特定の組成の材料を用いて、8種類のフェルトを製造した。8種類のフェルトをフィルターから取出しそして乾燥した。乾燥した複合物のフェルトから栓状物(10mm径)を切り出し、そして慣用の分取高性能液体クロマトグラフ用の端部取付部品を有する250mmのステンレス鋼カラム中に充填した。このようにして形成した固定相のクロマトグラフの評価を、0.2%2-ブロパノール/ヘプタンの移動相を使用して実施した。10mm内径カラムの圧力低下および分散の特性を、毎分0.2、6、および19.8mlの流速にて評価した。固定相の分散特性を、保持されない溶質(トルエン)、僅かに保持される溶質(ジブチルフタレート、DBP)およびよく保持される溶質(ジメチルフタレート、DMP)を用いて測定した。繊維微粒子材料の調製の実験結果ならびにこれらの材料のクロマトグラフの効果を、第12~15表に示す。次いで、各組の実験結果におよぼす組成の変数のおおのの影響を、スクリーン処理計画を慣用の統計的分析によつて得た。或る変数の影響は、独立変数が正である場合の平均実験結果および独立変数が負である場合の実験結果の平均値の間の差であつた。実験8用に選ばれた変数数量は、この計画におけるこれら変数の負の量として任意に定められた。この影響の意義はダミーの変数にて得られた効果に対して独立変数を比較して評価された。ダミー変数の影響は、実験誤差ならびに変数の相互作用によるものである。このスクリーン処理計画に潜在的に存在する強度の相互作用のために、粒径の影響、粒径分布の分散性、および微粒子中の混合物の存在も、実験誤差および変数の相互作用による影響の評価に包含される。これは、有意性の確率の内輪の評価をもたらし、そして影響の有意性は該表に示されるものよりも実質的に大きい筈であつた。変数の影響の分析を、第17~38表に示す。

検討された変数はそれぞれ、固定相のクロマト

グラフ性能に影響を与えるのに有意であつた。組成の変数は若干の実験結果を改善させる場合があつたが、他の分野では性能を低下させる場合があつた。更に重要な実験結果の若干によぼす固定相の組成の影響の要約を、第38表に示す。

Partisilのブランドの多孔性シリカの粒径を10ミクロンから5ミクロンに減少させると、形成中の複合物材料の重量損失が大きくなり、排水時間が低下し、シートを通る圧力低下が大きくなり、そして理論的プレートの等価高さ (mmでのH) が低くなつた。圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積は増大した。カラムの全般的な分離は、Partisilの粒径の変化によつて有意に増加しなかつた。

Partisilにもとづく実験をSiloid620ブランドのシリカにもとづく実験と比較した場合、Partisilの場合フェルトの排水時間およびカラムの分離が減少した。理論的プレートの東価高さならびに圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積は、Syloid620にもとづくカラムよりもPartisilにもとづくカラムの場合が大であつた。PartisilがSyloid620との混合物として存在した場合、純粋なSyloidまたは純粋なPartisilを微粒子として使用した場合よりも、複合材料において混合物は低い圧力低下および低い理論的プレートの等価高さを有していた。PartisilおよびSyloid620の混合物が存在した場合、カラムの分離が改善された。また、圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積が低下し、複合材料の形成に関連する重量損失が増大し、フェルト排水が減少し、そして理論的プレートの等価高さが減少した。圧力低下、分離、および圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積によぼす影響は少ししかなかつた。ジメチルフタレート容量因子によぼす精製バルブ

の量の影響は目だたない程度であつた。より高度の汙水度値すなわちより増加したCSF値を用いた実験ではより低度の重量損失、フェルトの形成におけるより低度の排水時間、より低度の圧力低下、および理論的プレートの等価高さの増加に対する分離の不良を保有したので、バルブの汙水度は有意の変数であつた。しかし一般に、圧力低下と理論的プレートの等価高さの積は、バルブの汙水度が増加するに従つて減少した。複合材料中の微粒子の量を減少させる重量損失、圧力低下、および圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積が低下したので、複合材料中の微粒子の量は有意の変数であつた。微粒子の量を減少させると、かなり低い容量因子、より低度の分離、およびより大きな理論的プレートの等価高さを有する複合材料が生成した。

クロマトグラフの分離用の複合材料の性能を評価するための重要な変数は、圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積である。この積は理論的プレートあたりの圧力低下に相当し、そしてより低い値はより能率的な分離に該当する。これは、所与の流速にて理論的プレートの分離を達成するのに必要とされる圧力低下がより少であるからである。純粋なPartisilもしくは純粋なSyloid620のいずれかが微粒子として使用された実験4、5、7および8の圧力低下と理論的プレートの等価高さとの積を比較した場合、実験2に存在する変数を組合せると該積の値に有意な改善が得られた。理論的プレートの等価高さと圧力低下との積は、微粒子として純粋なPartisilまたは純粋なSyloid620を複合材料中に使用してなされた実験より、partisilをSyloid620と混合した各実験の方が低かつた。

第 10 表
スクリーニング計画用の実験計画

| 実験 番号 | 実 験 変 数 | | | | | | |
|----------|----------------------|------------|----------|---------------------|--------------------|----------------------------------|----------------|
| | 1 粒径 (μ) | 2 シリカ | 3 混合物 | 4 精製パルプ の量(%) | 5 精製パルプ の濾水度 | 6 微粒子の 量 ⁽¹⁾ 、% | 7 ダミー 変数 |
| 1 | 5 | Partisil | 有 | 6 | -100 | 70 | - |
| 2 | 10 | Partisil | 有 | 4 | -250 | 60 | - |
| 3 | 10 | Syloid 620 | 有 | 4 | -100 | 70 | + |
| 4 | 5 | Syloid 620 | 無 | 4 | -100 | 60 | - |
| 5 | 10 | Partisil | 無 | 6 | -100 | 60 | + |
| 6 | 5 | Syloid 620 | 有 | 6 | -250 | 60 | + |
| 7 | 5 | Partisil | 無 | 4 | -250 | 70 | + |
| 8 | 10 | Syloid 620 | 無 | 6 | -250 | 70 | - |

(1) 残量の複合材料は未精製パルプすなわちセルロース長繊維である。

第 11 表
初期のスクリーニング計画に
おける材料の組成

| 実験 番号 | Syloid 620 (重量%) | Parhisil | | 精製パルプ の量(%) | 精製パルプ の濾水度 |
|----------|---------------------|----------|-------------|----------------|---------------|
| | | (重量%) | 粒径(μ) | | |
| 1 | 35 | 35 | 5 | 6 | -100 |
| 2 | 30 | 30 | 10 | 4 | -250 |
| 3 | 35 | 35 | 10 | 4 | -100 |
| 4 | 60 | 0 | - | 4 | -100 |
| 5 | 0 | 60 | 10 | 6 | -100 |
| 6 | 30 | 30 | 5 | 6 | -250 |
| 7 | 0 | 70 | 5 | 4 | -250 |
| 8 | 70 | 0 | - | 6 | -250 |

第 12 表
スクリーニング計画 I の結果

| 実験 | シート 形成中の 重量損失 | フェルト の形成時 間(秒) | 複合物 の灰分 (%) | 圧力低下 (6ml/分 でのkg/cm ²) | 6ml/分 での 分離 |
|----|---------------------|----------------------|-------------------|--|-------------------|
| 1 | 11 | 28 | 67 | 16.5 | 4.32 |
| 2 | 11 | 35 | 49 | 7.7 | 3.92 |
| 3 | 16 | 16 | 57 | 11.6 | 4.59 |
| 4 | 9 | 31 | 51 | 14 | 3.23 |
| 5 | 11 | 11 | 50 | 13.7 | 2.91 |

41

42

| 実験 | シートの 形成中の 重量損失 | フェルト の形成時 間(秒) | 複合物 の灰分 (%) | 圧力低下 (6ml/分で のkg/cm ²) | 6ml/分での 分離 |
|----|----------------------|----------------------|-------------------|--|---------------|
| 6 | 15 | 25 | 49 | 21.7 | 4.46 |
| 7 | 29 | 13 | 52 | 32.2 | 3.73 |
| 8 | 12 | 70 | 66 | 25.2 | 3.73 |

第 13 表
スクリーニング計画Ⅱの結果

| 実験 | H* トルエン (.2ml/分) | H* トルエン (6ml/分) | H* トルエン (20ml/分) | H* DMP (.2ml/分) | H* DBP (.2ml/分) |
|----|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 0.758 | 0.482 | 0.610 | 0.922 | 0.904 |
| 2 | 0.606 | 0.746 | 0.802 | 1.120 | 0.964 |
| 3 | 0.580 | 0.331 | 0.431 | 0.930 | 0.833 |
| 4 | 0.756 | 0.921 | 1.050 | 1.450 | 1.240 |
| 5 | 1.060 | 1.940 | 2.170 | 2.790 | 2.040 |
| 6 | 0.611 | 0.332 | 0.451 | 1.320 | 0.790 |
| 7 | 0.778 | 0.600 | 0.726 | 1.700 | 1.240 |
| 8 | 0.711 | 0.518 | 0.712 | 1.900 | 1.070 |

* ⅢでのH

第 14 表
スクリーニング計画Ⅲの結果

| 実験 | H DBP (6ml/分) | K' DBP (6ml/分) | H DMP (6ml/分) | K' DMP (6ml/分) | H×圧力低下 (6ml/分での kg/cm ²) |
|----|------------------|-------------------|------------------|-------------------|--|
| 1 | 0.911 | 1.62 | 1.36 | 4.48 | 22.4 |
| 2 | 1.046 | 1.36 | 1.45 | 3.79 | 11.1 |
| 3 | 0.813 | 1.71 | 1.21 | 4.68 | 14 |
| 4 | 1.453 | 1.43 | 2.00 | 3.75 | 28 |
| 5 | 4.190 | 1.25 | 3.69 | 4.57 | 50.4 |
| 6 | 0.802 | 1.57 | 1.20 | 4.25 | 26 |
| 7 | 1.420 | 1.73 | 2.09 | 5.07 | 67.3 |
| 8 | 1.176 | 1.96 | 1.51 | 4.86 | 38 |

第 15 表
スクリーニング計画Ⅳの結果

| 実験 | H DBP (20ml/分) | K' DBP (20ml/分) | H DMP (20ml/分) | K' DMP (20ml/分) | 理論的プレートの等価 高さ×圧力低下 (20ml/分でのkg/cm ²) |
|----|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--|
| 1 | 1.120 | 1.65 | 1.26 | 4.63 | 79.7 |
| 2 | 1.210 | 1.38 | 1.59 | 3.76 | 42.3 |
| 3 | 0.957 | 1.65 | 1.30 | 4.49 | 55 |
| 4 | 1.770 | 1.45 | 1.86 | 3.81 | 89.8 |
| 5 | 2.880 | 1.32 | 2.97 | 3.16 | 141.4 |
| 6 | 0.938 | 1.64 | 1.16 | 4.40 | 87.7 |
| 7 | 1.610 | 1.68 | 1.90 | 4.95 | 226.2 |
| 8 | 1.480 | 1.95 | 1.61 | 4.79 | 144.3 |

第 16 表
スクリーニン
グ計画Ⅴの結果

| 実験 | DBP、0.2およ び20ml/分で のK'の比 | DMP、0.2およ び20ml/分で のK'の比 | 20およ び6 ml/分での圧 力低下の比 |
|----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 1.260 | 1.200 | 3.850 |
| 2 | 1.610 | 1.510 | 3.450 |
| 3 | 1.050 | 1.070 | 3.670 |
| 4 | 1.290 | 1.260 | 3.450 |
| 5 | 1.300 | 1.320 | 3.480 |
| 6 | 1.110 | 1.140 | 3.480 |
| 7 | 2.080 | 1.940 | 3.710 |
| 8 | 0.964 | 0.810 | 3.550 |

第 17 表
シートの形成中の重量損失
におよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 3.50 | 0.83 | 52.90 |
| 2. 分散性 | 2.50 | 0.59 | 39.20 |
| 3. 混合物 | -2.00 | 0.47 | 31.43 |
| 4. パルプの量 | 4.00 | 0.95 | 58.77 |
| 5. パルプの濾水度 | -5.00 | 1.18 | 68.70 |
| 6. 微粒子の量 | -5.50 | 1.30 | 72.83 |
| 7. ダミー変数 | 7.00 | 1.66 | 82.42 |

15

第 18 表
フェルトの形成時間におよ
ぼす独立変数の影響(秒)

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|--------|------|-------|
| 1. 粒径 | -8.75 | 0.58 | 38.58 |
| 2. 分散性 | -13.75 | 0.91 | 57.23 |
| 3. 混合物 | -5.25 | 0.35 | 22.74 |
| 4. パルプの量 | -9.75 | 0.65 | 42.71 |
| 5. パルプの濾水度 | -14.25 | 0.95 | 58.82 |
| 6. 微粒子の量 | -6.25 | 0.42 | 27.45 |
| 7. ダミー変数 | -24.75 | 1.64 | 82.18 |

30

第 19 表
複合物の灰分(%)にお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|--------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.75 | 0.23 | 14.32 |
| 2. 分散性 | -1.25 | 0.39 | 25.45 |
| 3. 混合物 | 0.75 | 0.23 | 14.32 |
| 4. パルプの量 | -5.75 | 1.78 | 84.96 |
| 5. パルプの濾水度 | 2.25 | 0.70 | 45.61 |
| 6. 微粒子の量 | -10.75 | 3.33 | 98.01 |
| 7. ダミー変数 | -6.25 | 1.93 | 87.64 |

40

45

第 20 表

圧力低下におよぼす独立変数の影響(6ml/分での kg/cm^3)

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 6.56 | 0.12 | 71.81 |
| 2. 分散性 | -0.61 | 0.12 | 6.37 |
| 3. 混合物 | -6.91 | 1.34 | 74.02 |
| 4. パルプの量 | -2.89 | 0.56 | 37.14 |
| 5. パルプの濾水度 | 7.79 | 1.51 | 78.88 |
| 6. 微粒子の量 | -7.09 | 1.37 | 75.07 |
| 7. ダミー変数 | 3.94 | 0.76 | 49.36 |

第 21 表

6 ml/分での分離におよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.15 | 0.30 | 19.22 |
| 2. 分散性 | -0.28 | 0.57 | 38.13 |
| 3. 混合物 | 0.92 | 1.88 | 86.67 |
| 4. パルプの量 | 0.01 | 0.03 | 0.90 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.20 | 0.40 | 26.48 |
| 6. 微粒子の量 | -0.46 | 0.94 | 58.50 |
| 7. ダミー変数 | 0.12 | 0.25 | 15.54 |

第 22 表

0.2ml/分にてトルエンのHにおよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.01 | 0.11 | 6.06 |
| 2. 分散性 | 0.14 | 1.15 | 67.33 |
| 3. 混合物 | -0.19 | 1.58 | 80.70 |
| 4. パルプの量 | -0.10 | 0.89 | 55.83 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.11 | 0.94 | 58.68 |
| 6. 微粒子の量 | 0.05 | 0.43 | 28.76 |
| 7. ダミー変数 | 0.05 | 0.42 | 27.58 |

46

第 23 表

6ml/分にてトルエンのHにおよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.30 | 0.81 | 51.75 |
| 2. 分散性 | 0.42 | 1.12 | 66.27 |
| 3. 混合物 | -0.52 | 1.40 | 75.98 |
| 4. パルプの量 | -0.17 | 0.45 | 30.04 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.37 | 0.99 | 60.93 |
| 6. 微粒子の量 | 0.50 | 1.35 | 74.36 |
| 7. ダミー変数 | 0.13 | 0.36 | 23.54 |

第 24 表

12ml/分にてトルエンの理論的プレートの等価高さ(HETP)におよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.32 | 0.79 | 51.11 |
| 2. 分散性 | 0.42 | 1.03 | 62.75 |
| 3. 混合物 | -0.59 | 1.47 | 77.86 |
| 4. パルプの量 | -0.23 | 0.58 | 38.51 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.39 | 0.98 | 60.15 |
| 6. 微粒子の量 | 0.50 | 1.24 | 70.74 |
| 7. ダミー変数 | 0.15 | 0.38 | 24.63 |

第 25 表

0.2ml/分にてDMPのHにおよぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.34 | 0.65 | 42.97 |
| 2. 分散性 | 0.23 | 0.45 | 29.91 |
| 3. 混合物 | -0.89 | 1.72 | 83.71 |
| 4. パルプの量 | -0.43 | 0.84 | 53.42 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.01 | 0.03 | 0.89 |
| 6. 微粒子の量 | 0.31 | 0.59 | 39.38 |
| 7. ダミー変数 | 0.34 | 0.65 | 42.97 |

40

47

第 26 表

0.2ml/分にてDBPのHにお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.18 | 0.56 | 36.96 |
| 2. 分散性 | 0.30 | 0.92 | 57.63 |
| 3. 混合物 | -0.52 | 1.59 | 80.99 |
| 4. パルプの量 | -0.13 | 0.40 | 26.37 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.24 | 0.72 | 47.16 |
| 6. 微粒子の量 | 0.25 | 0.75 | 48.62 |
| 7. ダミー変数 | 0.18 | 0.55 | 36.57 |

第 27 表

6ml/分にてDBPのHにお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.66 | 0.77 | 49.89 |
| 2. 分散性 | 0.83 | 0.97 | 59.98 |
| 3. 混合物 | -1.17 | 1.37 | 74.86 |
| 4. パルプの量 | -0.59 | 0.69 | 45.02 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.73 | 0.85 | 54.30 |
| 6. 微粒子の量 | 0.79 | 0.93 | 57.89 |
| 7. ダミー変数 | 0.66 | 0.77 | 49.89 |

第 28 表

6ml/分でのDBPのK'にお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.02 | 0.19 | 11.43 |
| 2. 分散性 | -0.18 | 1.94 | 87.79 |
| 3. 混合物 | -0.03 | 0.30 | 19.32 |
| 4. パルプの量 | -0.04 | 0.47 | 30.92 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.15 | 1.67 | 82.75 |
| 6. 微粒子の量 | -0.35 | 3.86 | 99.03 |
| 7. ダミー変数 | -0.03 | 0.30 | 19.32 |

48

第 29 表

HETP×圧力低下におよ
ぼす独立変数の影響
6ml/分にてkg/cm²

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|--------|------|-------|
| 1. 粒径 | 7.53 | 0.44 | 29.38 |
| 2. 分散性 | 11.27 | 0.66 | 43.67 |
| 3. 混合物 | -27.55 | 1.62 | 81.67 |
| 4. パルプの量 | -4.13 | 0.24 | 15.12 |
| 5. パルプの濾水度 | -6.93 | 0.41 | 26.94 |
| 6. 微粒子の量 | -6.55 | 0.39 | 25.34 |
| 7. ダミー変数 | 14.53 | 0.86 | 54.32 |

第 30 表

20ml/分にてDBPのHにお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.27 | 0.53 | 35.13 |
| 2. 分散性 | 0.42 | 0.81 | 52.09 |
| 3. 混合物 | -0.88 | 1.71 | 83.48 |
| 4. パルプの量 | -0.22 | 0.42 | 27.95 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.37 | 0.72 | 47.11 |
| 6. 微粒子の量 | 0.41 | 0.79 | 50.95 |
| 7. ダミー変数 | 0.20 | 0.39 | 25.70 |

第 31 表

20ml/分にてDMPのK'にお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.40 | 1.62 | 81.72 |
| 2. 分散性 | -0.25 | 1.01 | 61.75 |
| 3. 混合物 | 0.14 | 0.58 | 38.63 |
| 4. パルプの量 | 0.01 | 0.03 | 1.15 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.45 | 1.85 | 86.22 |
| 6. 微粒子の量 | -0.93 | 3.81 | 98.96 |
| 7. ダミー変数 | 0.00 | 0.01 | 0.28 |

40

49

第 32 表

20ml/分でのH×圧力低下に
およぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|----------|------|-------|
| 1. 粒径 | 358.50 | 0.50 | 33.36 |
| 2. 分散性 | 402.50 | 0.56 | 37.41 |
| 3. 混合物 | -1203.50 | 1.68 | 83.04 |
| 4. パルプの量 | -142.00 | 0.20 | 11.92 |
| 5. パルプの濾水度 | -480.50 | 0.67 | 44.19 |
| 6. 微粒子の量 | -514.00 | 0.72 | 46.93 |
| 7. ダミー変数 | 551.00 | 0.77 | 49.85 |

第 33 表

20ml/分でのDBPのK'にお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.03 | 0.35 | 22.67 |
| 2. 分散性 | -0.17 | 1.91 | 87.30 |
| 3. 混合物 | -0.02 | 0.23 | 14.30 |
| 4. パルプの量 | -0.10 | 1.16 | 67.83 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.14 | 1.68 | 82.98 |
| 6. 微粒子の量 | -0.28 | 3.30 | 97.95 |
| 7. ダミー変数 | -0.04 | 0.41 | 26.78 |

第 34 表

20ml/分でのDMPのHにお
よぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | -0.32 | 0.66 | 43.72 |
| 2. 分散性 | 0.45 | 0.92 | 57.64 |
| 3. 混合物 | -0.76 | 1.56 | 80.23 |
| 4. パルプの量 | -0.09 | 0.18 | 10.62 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.28 | 0.58 | 38.62 |
| 6. 微粒子の量 | 0.38 | 0.78 | 50.22 |
| 7. ダミー変数 | 0.25 | 0.52 | 34.61 |

50

第 35 表

0.2および20ml/分での
k'のDBP比におよぼす
独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.20 | 1.96 | 73.97 |
| 2. 分散性 | 0.46 | 4.41 | 85.41 |
| 3. 混合物 | -0.15 | 1.45 | 69.23 |
| 4. パルプの量 | 0.35 | 3.36 | 81.83 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.22 | 2.08 | 74.85 |
| 6. 微粒子の量 | -0.01 | 0.11 | 31.02 |
| 7. ダミー変数 | 0.10 | 1.00 | 63.21 |

第 36 表

0.2および20ml/分にお
けるk'のDMP比におよ
ぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|------|-------|
| 1. 粒径 | 0.21 | 1.20 | 66.21 |
| 2. 分散性 | 0.42 | 2.45 | 77.34 |
| 3. 混合物 | -0.10 | 0.59 | 54.84 |
| 4. パルプの量 | 0.33 | 1.90 | 73.47 |
| 5. パルプの濾水度 | -0.14 | 0.80 | 59.54 |
| 6. 微粒子の量 | 0.05 | 0.30 | 44.67 |
| 7. ダミー変数 | 0.17 | 1.00 | 63.21 |

第 37 表

20および6ml/分におけ
る圧力低下の比におよ
ぼす独立変数の影響

| 変数 | 影響 | T-値 | 確率 |
|------------|-------|-------|-------|
| 1. 粒径 | 0.08 | 8.50 | 92.34 |
| 2. 分散性 | 0.09 | 8.50 | 92.34 |
| 3. 混合物 | 0.07 | 6.50 | 89.80 |
| 4. パルプの量 | -0.02 | 2.00 | 74.27 |
| 5. パルプの濾水度 | 0.07 | 6.50 | 89.80 |
| 6. 微粒子の量 | -0.23 | 23.00 | 98.14 |
| 7. ダミー変数 | 0.01 | 1.00 | 63.21 |

第 38 表
独立変数の影響の要約

| 変数 | 変数の変化 | 複合物形成の重量損失 | フェルトの排水時間 | 6 ml/分での圧力低下 | 分離 | H | 圧力低下とHとの積 | DBPのk' | DMPのk' |
|--------------|-------|------------|-----------|--------------|----|---|-----------|--------|--------|
| 粒径 | - | + | + | + | 0 | - | + | 0 | 0 |
| 存在するPartisil | | 0 | - | 0 | - | + | + | - | 0 |
| 存在する混合物 | | 0 | 0 | - | + | - | - | 0 | - |
| バルブの量 | - | + | - | 0 | 0 | - | 0 | 0 | - |
| バルブの濾水度 | + | - | - | - | - | + | - | - | 0 |
| 微粒子の量 | - | - | 0 | - | - | + | - | - | - |

注：+=正の変化

- =負の変化

0=無変化

例 7

成分を分離するためのカラムの効果に有意に影響をおよぼすカラムの変数は、軸方向の分散の量である。分散の差異によつて種々のカラムにて得られる分散を比較するのが便利である。ピークの流出がガウス型である場合、二つの変数はこの曲線…平均および標準の偏差を形成することが必要とされる。分散曲線の差異は標準偏差の自乗である。標準偏差を分散曲線の平均にて除しそして次にその効果を自乗して得られる無次元の分散値を用いて種々のカラムの能率を比較することができる。

例 4 の工程に従つて、DMD(ジメチルフタレート) およびDBP(ジブチルフタレート) のクロマトグラフによる分離の無次元分散値を得た。第 39 表に示す。保持された成分の分散は、保持されない成分であるトルエンの分散よりも実質的に大きくないことに注目されたい。保持された成分の分散はカラム自体中の逆混合による分散に依存するので、拡散または抵抗による分散値は、保持された成分の分散値からトルエンの分散値を差引いて得ることができる。第 40 表にこのような計算を示す。大部分のカラムの分散値は長さ方向の拡散または逆混合によることに留意されたい。拡散の抵抗の寄与はDMPおよびDBPの両者の場合ほぼ

同じであつた。これらの結果は、これも第 40 表に示されているSyloid620の微粒子カラムにて得られた分散と対照している。未知の保持された成分トルエンを用いて比較的鋭いピークが得られ、そして保持された成分について実質的により大きな分散が得られた。このことは、比較的少ない逆混合または軸方向の拡散がシリカカラム中に存在することを示す。DBPには有意差があつたが、これはDMPほど高度に保持されていない。検査したより遅いおよびより速い流速では、拡散抵抗が複合物カラムにおけるよりも微粒子カラムにおける方が大きかつた。逆混合による寄与は、複合物カラムの特定の組成に応じて変化するであろう。

例 8

例 7 の工程に従つて、DMPおよびDBPの99%の分離に必要とされる、圧力低下、H、保持因子k'、および理論的最小カラム距離を測定した。これらを第 40 表に示す。圧力低下は流速に関してほぼ線状であり、層流条件であることを示している。得られた分散係数または逆混合の量も、流速に関して明らかに線状である。一般に、複合物材料の場合のHは、100%の微粒子を含有するカラムの場合に変化したほど大きくは流速に関して変化しなかつた。流速に関する複合物材料のこの不感受性は利点である。

第 39 表

| | 流速 ml/分 | 速度、V cm/分 | トルエン の分散値 | DBP 分散値 | DMP 分散値 | DBP U/D _{eff} L | DMP U/D _{eff} L |
|-----|------------|--------------|--------------|------------|------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 複合物 | 0.2 | 0.06367 | 0.00102 | 0.001291 | 0.001684 | 0.000274 | 0.000667 |
| | 0.5 | 0.159 | 0.00113 | 0.00157 | 0.00169 | 0.00044 | 0.000556 |
| | 1 | 0.318 | 0.00129 | 0.00179 | 0.00172 | 0.000496 | 0.0004299 |
| | 2 | 0.637 | 0.001414 | 0.00193 | 0.00194 | 0.0005118 | 0.000529 |
| | 4 | 1.273 | 0.00146 | 0.002086 | 0.00210 | 0.000624 | 0.000643 |
| | 6 | 1.91 | 0.00159 | 0.00222 | 0.00216 | 0.000654 | 0.0005977 |
| | 8 | 2.55 | 0.00150 | 0.00233 | 0.00216 | 0.000832 | 0.000665 |
| | 9.9 | 3.15 | 0.00158 | 0.00279 | 0.00211 | 0.00121 | 0.000535 |
| シリカ | 1 | 0.318 | — | 0.00544 | 0.000603 | 0.000508 | 0.000311 |
| | 2 | 0.637 | 0.000352 | — | — | — | — |
| | 6 | 1.91 | 0.000419 | 0.00195 | 0.00133 | 0.00153 | 0.00091 |
| | 9.9 | 3.15 | 0.000492 | 0.00224 | 0.00134 | 0.00175 | 0.000848 |
| | 12.0 | 3.82 | 0.000571 | 0.00431 | 0.00167 | 0.00374 | 0.00110 |

第 40 表

| % Syloid 620 | % 250CSF バルブ | 圧力低下 (kg/cm ²) (25cm) | HETP(mm) | | k' | | 分離 時間 (分) | 圧力低下 (kg/cm ²) (99%の分離) | 距離 (cm) | 合計の 微粒子 (gm) |
|--------------------|--------------------|---|----------|-------|------|-----|-----------------|---|------------|--------------------|
| | | | DBP | DMP | DBP | DMP | | | | |
| 30 | 10 | 35 | 3.014 | 2.972 | 1.1 | 3.0 | 4.00 | 29.3 | 20.2 | 0.90 |
| 50 | 7.5 | 17.2 | 7.453 | 6.672 | 1.0 | 2.8 | 7.55 | 27.8 | 39 | 4.78 |
| 0 | 5 | 26.3 | — | — | — | — | 1.17 | 13.4 | 9.87 | 0.66 |
| 19 | 6 | 31.5 | 1.674 | 1.036 | 0.7 | 1.9 | 3.35 | 12.9 | 7.88 | 1.06 |
| 44 | 6 | 37.8 | 1.85 | 1.343 | 2.9 | 6.6 | | | | |
| 100 | 0 | 27.3 | 0.56 | 0.335 | 3.79 | 9.6 | 1.08 | 20.6 | 1.54 | 0.705 |

例 9

或る分離を達成するために必要とされるカラム長は、ピークとピークとの幅の間の分離の時間に依存する。ピーク間の時間は容量因子 k' の関数であり、そしてピーク間の幅は標準偏差(X)の数として表現できる。下記の方程式を用いて、特定の分離を得るに必要なカラム長を予測することができる。

長さ=(実験的カラム長)(無次元分散値)

(X)²

[容量因子プラス2の和/容量因子間の差]

前記の70%のSyloid620カラムの場合、試料の99%が回収されそして標準偏差数は2.33であった。従つて、DBPからDMPを分離するために必要とされるカラム長は僅かに7cmであった。この方程式は、チャンネリングの原因となりそしてピ

ークの拡大を生起し得るカラムの不規則性を考慮してない。また溶出曲線は、追加的な誤差をもたらす傾向のある通常の分布(特に高度のカラム充填にて)を表わしていない。しかし、該方程式は、予備設計および設計用の有意な変数の同定を容易にするので有用である。

カラムの容量は或る成分が流出するのに必要とする時間に関連する。分離が必要な場合長い保持時間は実際に生成容量を低下させるので、高い容積を有することは必ずしも望ましくない。理論的に容量因子は、分配係数と固定相の外部表面積対移動層の体積の比との積に等しい。従つて、本発明の固定相の容量因子は、複合物材料の表面積対空隙体積の比を変化させることによつて調節できる。これらの例に記述したように、テストした固定相のすべての空隙体積はほぼ一定であり、そし

て繊維類はテストした成分について分離能力を示さなかった。複合物中の微粒子または微粒子混合物の量は複合物の容量に影響を与えるために使用できる主要な変数であることが、これによつて示唆される。容量因子とシリカの量対空隙体積の比との間に、線状の関係が存在した。

例 10

弱アニオン交換材料による回収された人体プラズマの分別

0.025MのpH5.5の酢酸ナトリウム緩衝液にて10倍に希釈した回収人体プラズマの10mlアリコット(最終的にpH6.31)を、高さ12.5cm×内径2.5cmの寸法を有しそして(3-アミノプロピルトリエトキシシランにて処理して改質した平均粒径70マイ*

*クロメートルの)シリカゲル70%を含有する個々の収着要素にて充填された本発明に従うカラムに通過させた。処理速度は5mm/分であつた。

(1) 0.025Mの酢酸ナトリウム緩衝液 pH6.31

5 (2) 0.25Mの酢酸ナトリウム緩衝液 pH5.5

0.25Mの酢酸ナトリウム緩衝液 pH4.8および

(3) 0.25Mの酢酸ナトリウム緩衝液 pH4.0

を使用して、該カラムを引続き溶出させた。

四つの画分の溶出分布を第11図に示す。約20

10 mlの画分を集め、そしてアルブミン(シグマNa

630) およびグロブリン(シグマNa560)の検定用

に12画分を選んだ。該12の画分の溶出分布を第41

表に示し、そして6種類のプールした画分の特性

を第42表に示す。

第 41 表

11の選定画分の溶出分布

| チューブ番号 | O. D. 280nm | アルブメン* (O. D. 630) | グロブリン** (O. D. 560) | アルブメン/ グロブリン | 相対比 ⁺ |
|--------|-------------|-----------------------|------------------------|-----------------|------------------|
| 最初 | | 0.377 | 0.185 | 2.03 | 1 |
| 4 | 0.45 | 0 | 0.026 | 0 | 0 |
| 7 | 1.22 | 0 | 0.051 | 0 | 0 |
| 11 | 0.27 | 0 | 0.004 | 0 | 0 |
| 18 | 1.60 | 0.17 | 0.029 | 0.59 | 0.29 |
| 20 | 0.90 | 0.054 | 0.040 | 1.35 | 0.67 |
| 22 | 0.75 | 0.026 | 0.019 | 4.52 | 2.23 |
| 24 | 0.66 | 0.103 | 0.010 | 10.30 | 5.07 |
| 30 | 0.41 | 0.080 | 0.006 | 13.33 | 6.57 |
| 38 | >2 | 0.232 | 0.035 | 6.62 | 3.26 |
| 40 | 0.96 | 0.102 | 0.021 | 4.84 | 2.39 |
| 48 | 2.00 | 0.052 | 0.051 | 1.01 | 0.50 |
| 49 | 1.40 | 0.039 | 0.044 | 0.89 | 0.44 |

* シグマNa630検定

** シグマNa560検定

+ 最初の試料の比にて除したチューブのアルブメン/グロブリンの比

第 42 表

プールした6の画分の特性

| 画分 | チューブ | 体積 (ml) | 緩衝液* pH | NaCl (m) | 画分 | チューブ | 体積 (ml) | 緩衝液* pH | NaCl (m) |
|------|-------|------------|------------|-------------|----|-------|------------|------------|-------------|
| I ** | 1-11 | 36 | 5.5 | 0 | V | 51-63 | 44 | 3.8 | 0.2 |
| II | 12-20 | 30 | 4.3 | 0 | VI | 64-80 | 57 | 3.8 | 0.5 |
| III | 21-32 | 40 | 4.3 | 0.2 | | | | | |
| IV | 33-50 | 61 | 4.0 | 0.2 | | | | | |

* 緩衝液=0.025Mの酢酸ナトリウム

** この画分中の試料の適用

例 11

弱アニオン交換材料によるグルコアミラーゼの精製

57

商業的なグルコアミラーゼを0.025Mの酢酸ナトリウム緩衝液pH5.5に対して透析し、そして50SZeta Plns カチオン性改質フィルター材 (AMF Incorporated 社 製、White Plains、NewYork) を通して濾過した。次いで、該溶液の1mlの試料 (45.6mg/ml蛋白質) を、室温にて1ml/分 (22PSI) でクロマトグラフカラム (高さ10cm、内径0.9cm) へ適用した。該カラムには例10に記述した種類の収着要素を充填した。3.3mlの画分の合計80本のチューブを集め、そして蛋白質の溶出における種々のpHおよびイオン強度の段階的变化に応じて6の画分にブールした (第43表)。最初の蛋白質試料と比較した該6画分の検定結果を、下記の第43表に示す。最初の活性の77%が1.8倍の純化にて画分VIに回収されることを、これらのデータが示す。

第 43 表
蛋白質および酵素の活性の結果

| 試料 | 蛋白質 (mg)* | 酵素の活性** | 活性/mg | 比活性 |
|--------|-----------|---------|-------|------|
| 開始 | 45.6 | 7.30 | 0.16 | 1 |
| 画分 I | 1.1 | 0 | 0 | 0 |
| 画分 II | 0.6 | 0 | 0 | 0 |
| 画分 III | 1.0 | 0 | 0 | 0 |
| 画分 IV | 11.6 | 0.61 | 0.053 | 0.33 |
| 画分 V | 6.6 | 0.68 | 0.13 | 0.80 |

*

第 44 表
分離の結果

| カラム | 試料 | 6.8回収 | 4.0回収 | 合計の回収 | 回収% | 6.8における合計の回収%の% | 6.8/4.0 |
|-----|---------|---------|---------|----------|-------|-----------------|---------|
| 1 | 15.5 mg | 9.13mg | 2.74mg | 12.915mg | 83 % | 70.69% | 3.33 |
| 2 | 32 mg | 21.08mg | 6.95mg | 29.66 mg | 93.9% | 71.06% | 3.03 |
| 3 | 49.8 mg | 33.09mg | 10.7 mg | 45.99 mg | 92.3% | 71.96% | 3.092 |
| 4 | 65.48mg | 48.41mg | 12.38mg | 62.68 mg | 95.7% | 77.23% | 3.9 |

第44表から、はじめの3本のカラムは同様な結果をもたらすことがわかる。最少の試料中の分離が最適であったとするならば、次の二試料中の蛋白質 (IgG) の分布は6.8緩衝液にて溶出する回収し得る蛋白質の約71%と非常に似ている。第4の試料では、該6.8画分中の蛋白質が回収され得る蛋白質の77.2%に増加したが、これは該カラムの可能性のある過剰供給を示す。この情報から、最

58

| 試料 | 蛋白質 (mg)* | 酵素の活性** | 活性/mg | 比活性 |
|-------|-----------|---------|-------|------|
| 画分 VI | 17.8 | 4.88 | 0.28 | 1.80 |
| 画分の合計 | 38.1 | 6.33 | 0.17 | |

* Lowryの検定

** グルコースへの澱粉の加水分解を測定する複合検定

+ mgあたりの開始時の活性に関して

例 12

イミューングロブリン G (IgG) の精製

例10に記述した収着要素材料0.2gを充填した高さ10cm×内径10mmの4本のクロマトグラフカラムをそれぞれ、1.5ml/分の流速にて操作した。該IgG試料 (Immunoreagents Inc., sequin、Texasから得た人体血清の硫酸アンモニウム分別試料) を、該カラムに通す前に、0.05Mのリン酸ナトリウムpH6.8に対して透析した。該カラムを、0.05Mのリン酸ナトリウムpH6.8および0.025M酢酸ナトリウム、および0.5Mの塩化ナトリウムpH4.0にて溶出させた。

各カラムにて得られた結果を下記の第44表に示す。

25

大容量は材料のグラムあたり25mgであると見出される。

pH6.8の溶出試料の純度を定性するために、49.8mgカラムおよび65.48mgカラムからの等量のIgG溶出液を再クロマトグラフ処理した。これらの6.8溶出液 (3Bおよび4B) からの等量を再クロマトグラフ処理した (3Cおよび4C)。分離の結果を下記の第45表に示す。

第 45 表
再クロマトグラフ処理溶出液の分離の結果

| 試料 | 適用した Mg | 6.8溶出 | 4.0溶出 | 合計の回 収 | 6.8における合 計の回収% | 6.8 4.0 |
|----|------------|---------|----------|-----------|-------------------|------------|
| 3A | 49.8 mg | 33.09mg | 10.7 mg | 45.99 mg | 71 % | 3.09 |
| 4A | 65.48mg | 48.41mg | 12.38 mg | 62.68 mg | 77.23% | 3.9 |
| 3B | 16 mg | 12.47mg | .779mg | 13.866mg | 89 % | 16.01 |
| 4B | 16.1 mg | 12.61mg | 1.373mg | 14.617mg | 86.3 % | 9.18 |
| 3C | 5.79mg | 4.61mg | .126mg | 4.85 mg | 94 % | 36.58 |
| 4C | 5.8 mg | 4.52mg | .138mg | 4.78 mg | 94 % | 32.75 |

3Bおよび4Bの溶出分布から、3Aの6.8溶出は4Aからのものよりも純粋であつたことがわかる。該B系列において同様な適用によつて、6.8対4.0の溶出において異なる比の蛋白質を得た。該B系列からの精製IgG試料を再クロマトグラフ処理し

例 13

調製規模のイミューグロブリン G(IgG) の精製

本発明によるクロマトグラフカラム（高さ24cm × 内径2.5cm、例10に記述された33gの個々の収着要素にて充填）を、下記のようにして平衡化した。

500mlの水

200mlの0.1M、pH6.8のリン酸ナトリウム

800mlの0.025M、pH4.0の酢酸ナトリウムおよび0.5Mの塩化ナトリウム

500mlの0.1M、pH6.8のリン酸ナトリウム

1500mlの0.05M、pH6.8のリン酸ナトリウム

平衡化を毎分10mlにて実施した。カラムの空隙体積は約80mlであつた。

例12に記述したIgG試料を、カラムに適用する前に、0.05M、pH6.8のリン酸ナトリウムに対して透析した。透析後に、1：100の希釈液は、19.1mg/l(OD IgG、1mg/ml=1.35) に等しい OD280— .258を有していた。43ml (821・3mg) のIgG溶液をカラムに通過させた。0.05M pH6.8のリン酸ナトリウムそして引続き0.025M pH4.0の酢酸ナトリウムおよび0.5Mの塩化ナトリウムを用いて、溶出を実施した。流速は毎分4mlであつた。分離の結果を下記に示し、そして6.8および4.0の回収の溶出特性を第12図にグラフで示す。

試料

821.3mg

6.8回収

535.28mg

4.0回収 179.51mg
合計の回収 724.43mg
合計の回収% 88.48%
6.8における合計の% 73.68%
6.8/4.0 2.98

例 14

本発明の固形固定相を含有するカラムを或る従来のカラムそして特にLeifieldによる米国特許3455818号およびHuberによる同3856681号のカラムと比較するために、「四角形」の分子分離カラムを作成した。（なお該米国特許には、主要な流体の流れの出入に実質的に垂直に延長している層の厚さの寸法にて互いに隣接して配置されているが複数のクロマトグラフ材料シートを使用することが示唆されている。）該カラムは、幅25mm、深さ25mmそして長さ259mmの槽から構成された。接合部をシールするOリングにて該槽にボルトじめたふたが設置された。移動相の入口および出口の端部の中心に0.16cmの孔をあけた。2μmの多孔度を有する厚さ0.16cmの25mm平方のステンレス鋼板が、該両端部にて溶剤を分布させた。

24%の未精製バルブ、6%の—250高度精製バルブおよび70%のSyloid620からなるシートを、該カラムに充填した。該材料は30.50の円形シートにフェルト処理された。縦の充填（従来技術）用に6～8個の25×250mmのストリップを切断した。次いで、これらを該カラムに入れそしてふたをボルトじめた。次いで該材料を分子分離性に関してテストした。水平充填すなわち本発明の実質的に均質な固形固定相用に、同じ工程に従つて、25×25mm平方の材料を用いて、該槽にそつて水平に積み重ねた。水平ストリップ（本発明）および縦のストリップ（従来技術）の両者を、Varian Model5000液体クロマトグラフを使用し

61

62

て二組テストした。追加的なテストでは、縦および水平の充填を前記のようにつめ、そして次に追加のパッドまたはストリップを高い圧力にて加えてカラム中の高度の充填密度を確保した。

(1)ベンゼン、(2)ベータナフトール、(3)p-ニトロフェノール、(4)安息香酸、および(5)ジメチルフタレートを含む試料を評価した。移動相はヘキサンであつた。使用した紫外線検出器は254ナノメートルにセットした。

これらのテストにて、本発明の水平充填はカラム能率にて8倍の増加および非常に鋭いピーク形を与え、縦のストリップ（従来技術）よりも非常に良好なクロマトグラフ性能を示すことが、判明

した。このことは、縦のストリップ（従来技術）用に特にカラムを設計しそして流れの形態を最適化した事実にかかわらずであつた。一般に、上記の試料の注入から得られたクロマトグラムはすべて、水平充填（本発明）と比較して、縦充填（従来技術）の場合非常に「広い」ピーク形および非常に「悪い」進行を示した。

本発明の思想および範囲内にて本発明の方法および製品において、種々の変更および修正をなすことができる。本明細書に記述した種々の態様は本発明を更に説明する目的のためであり、本発明の限定を意図するものではない。

FIG. 1

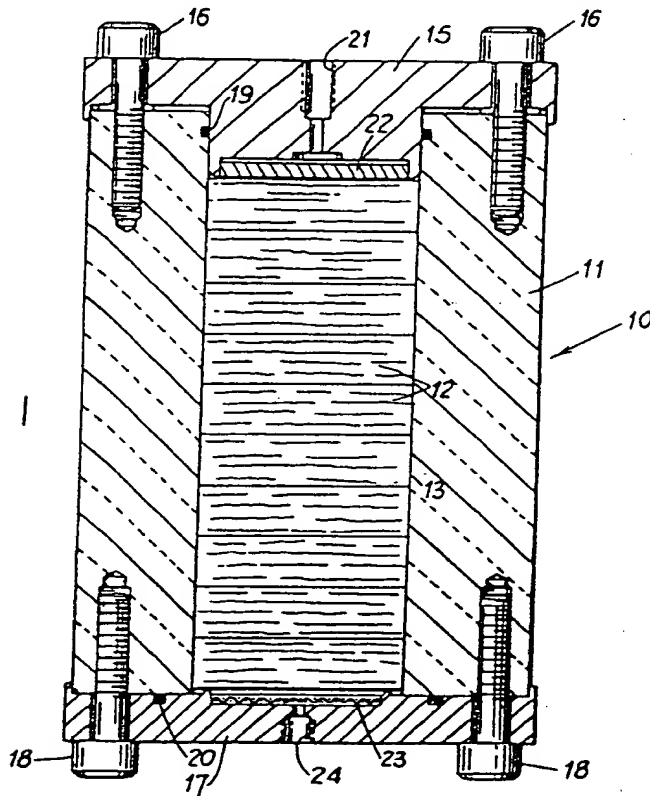
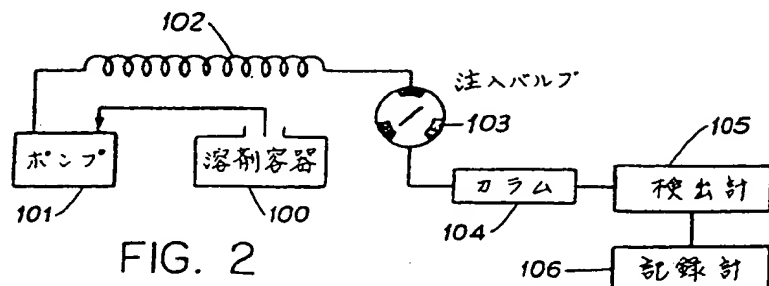


FIG. 2



BEST AVAILABLE COPY

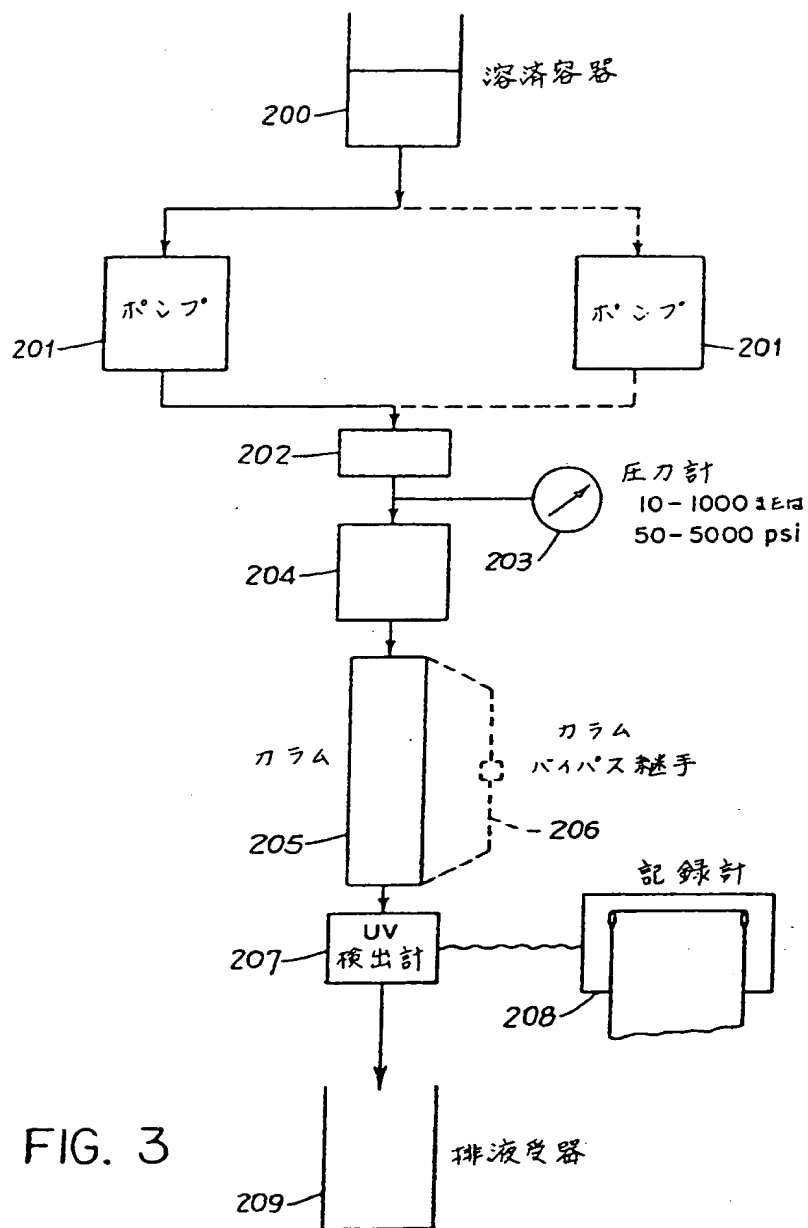


FIG. 3

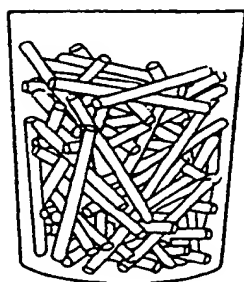


FIG. 4A

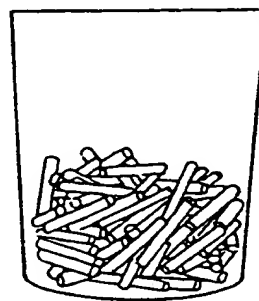


FIG. 4B

BEST AVAILABLE COPY

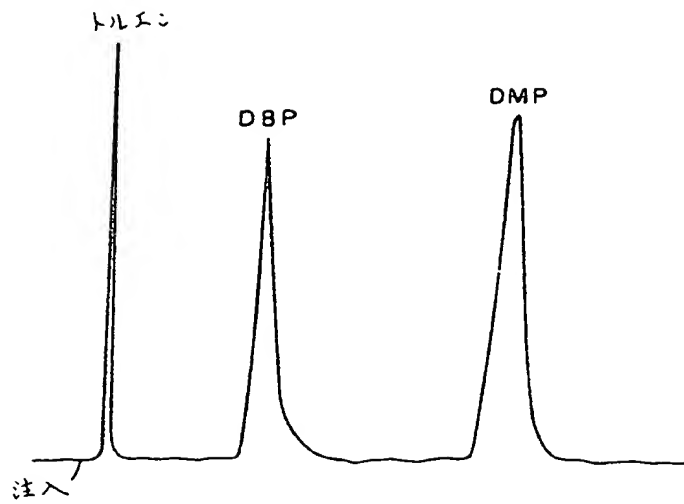


FIG. 6

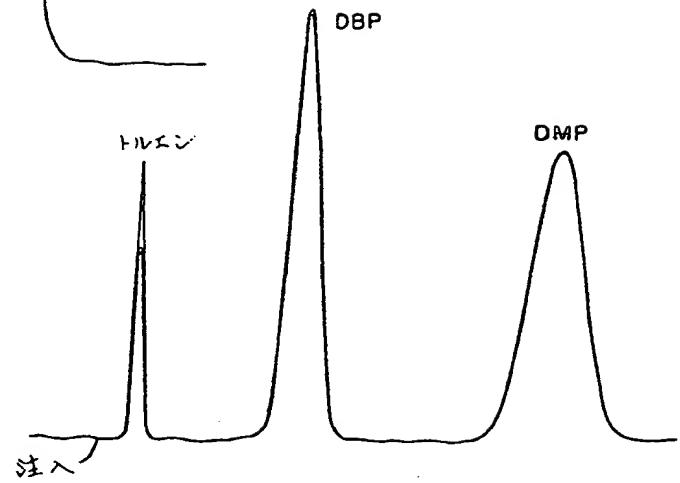
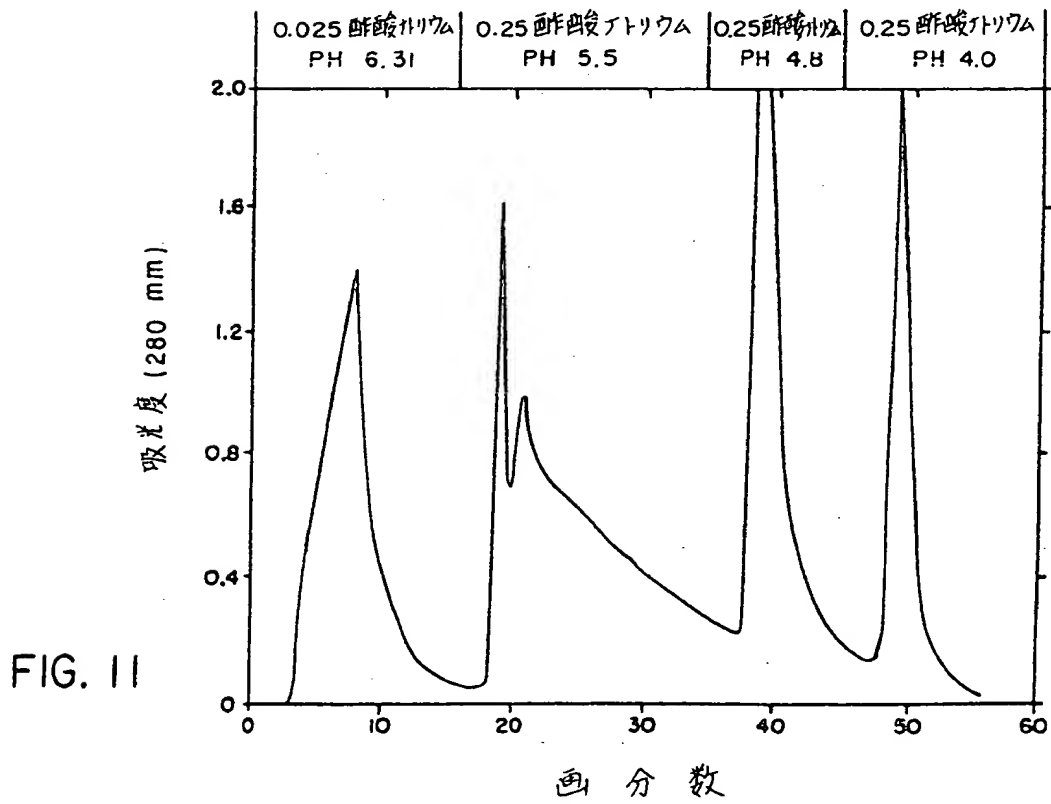


FIG. 5



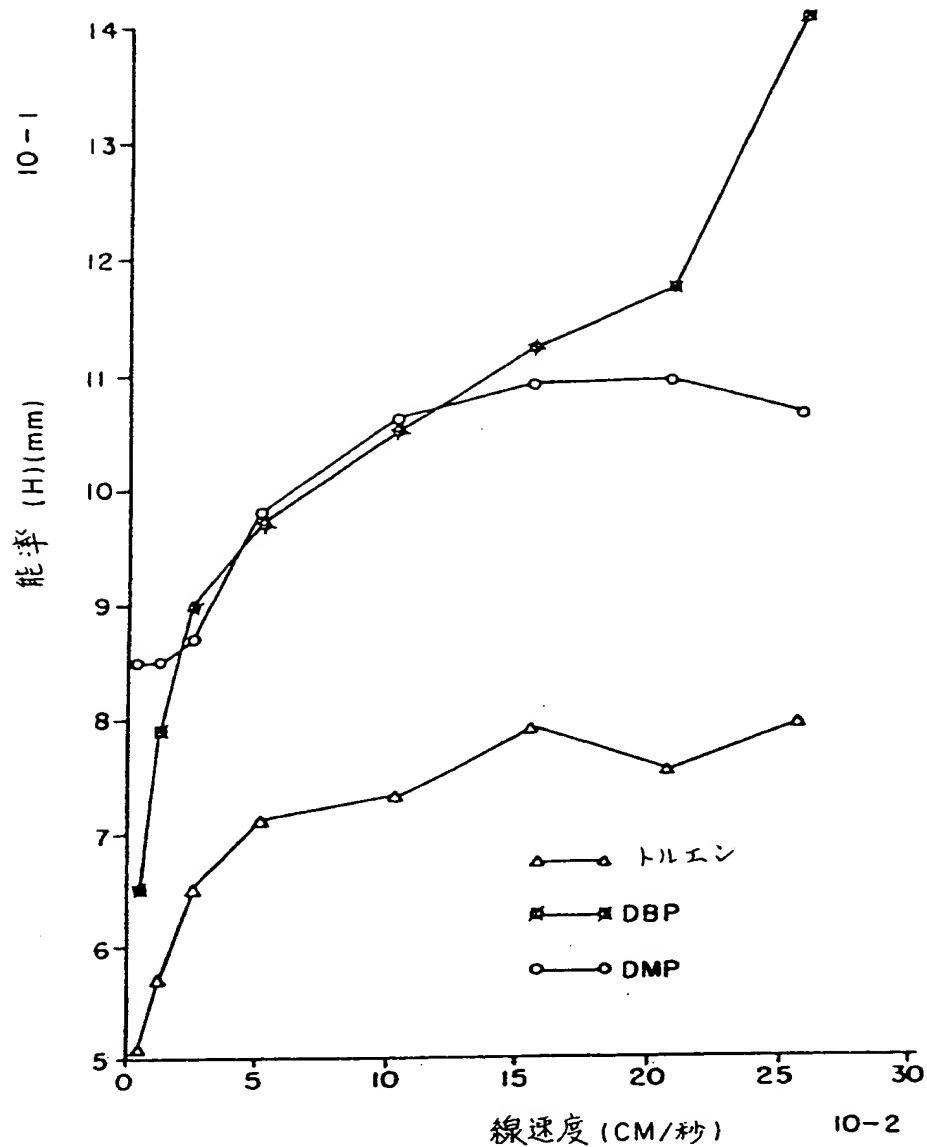


FIG. 7

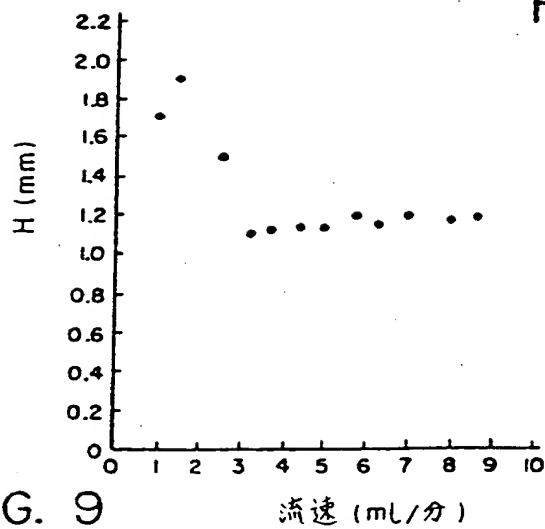


FIG. 9

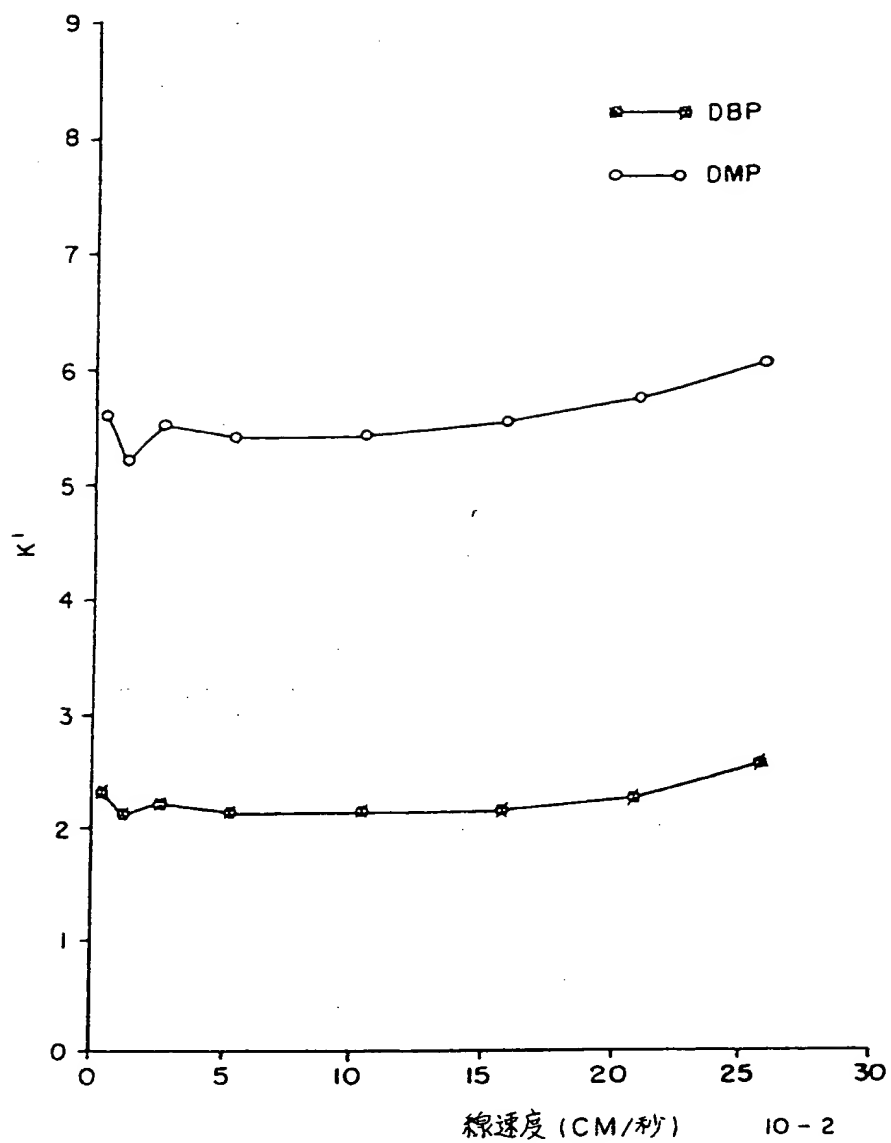


FIG. 8

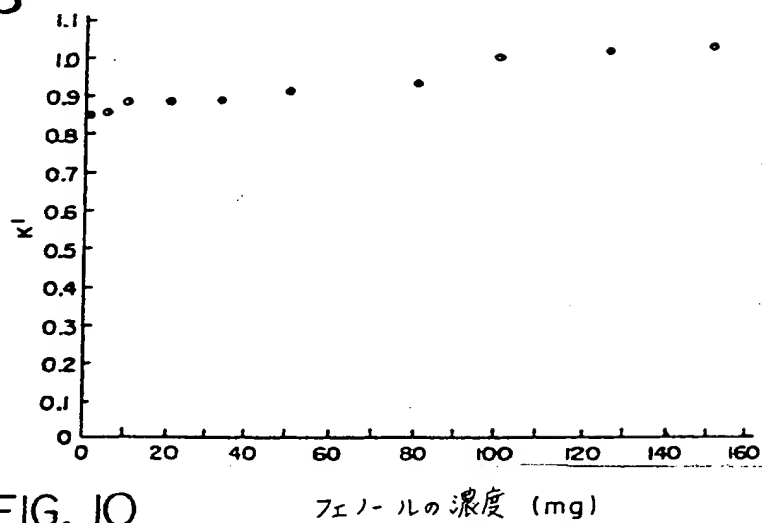


FIG. 10

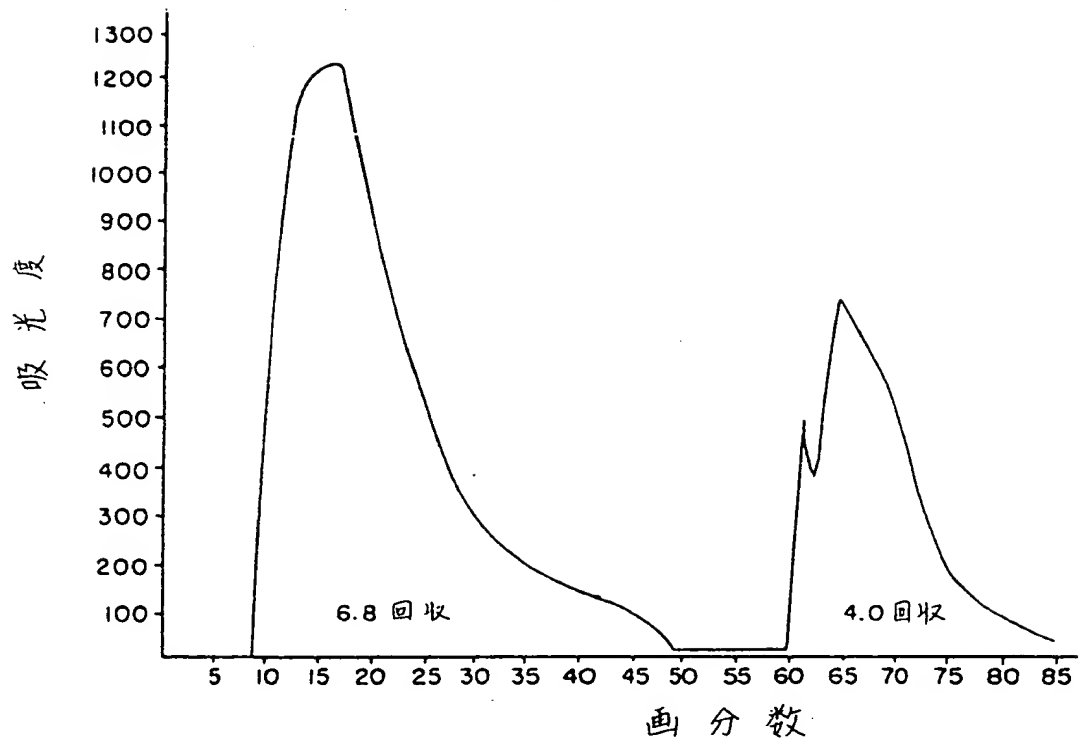


FIG. 12